

# EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES  
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT  
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE  
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

A.v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE

Bern

Zürich

Genève

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10

SUISSE · SCHWEIZ · SVIZZERA · SWITZERLAND

Vol. VI. – Fasc. 7

15. VII. 1950

Fr. 2.50

## SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

R. L. MAYER: Compounds of Quinone Structure as Allergens and Cancerogenic Agents . . . . .	241
TILLY EDINGER: Die Paläoneurologie am Beginn einer neuen Phase . . . . .	250

### Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

J. L. OWADES: Mechanism of the Photocondensation of Steroids . . . . .	258
J. R. BILLETTER und K. MIESCHER: Darstellung von 4-Ring-Ketonen aus dem trizyklischen Keton von Köster und Logemann . . . . .	261
K. CLUSIUS und M. HUBER: Isolierung des Neonisotops <sup>20</sup> Ne von 99,95% isotoner Reinheit im Trennrohr . . . . .	262
F. GRÜN und R. MENASSÉ: Bestimmung der magnetischen Suszeptibilität von Vitamin B <sub>12</sub> . . . . .	263
ERIKA SUTTER: Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf Atmung und Ionenaufnahme von Weizenwurzeln . . . . .	264
E. HEITZ: Direkte Messung der großen Periode des Wachstums an aufeinanderfolgenden Zellen im Wurzelvegetationspunkt . . . . .	265
A. ENGSTRÖM und R. AMPRINO: X-Ray Diffraction and X-Ray Absorption Studies of Immobilized Bones . . . . .	267
M. DUBUISSON: Sur les protéines extractibles du muscle strié après traitement de la pulpe par quelques solvants organiques . . . . .	269
H. BORNSCHIEIN und F. KREJCI: Beitrag zur Analyse des postmortalen Verhaltens der Cochlearpotentiale . . . . .	271
I. LEUSEN: Influence du p <sub>H</sub> du liquide céphalo-rachidien sur la respiration . . . . .	272
J. AMBRUS, C. AMBRUS et J. JACOB: Sur la désensibilisation histaminique chez le cobaye et chez le rat . . . . .	272
M. J. DALLEMAGNE, M. A. GEREBTZOFF et E. PHILIPPOT: Surcharge lipidique de l'organisme dans l'intoxication chronique du chien par le γ-hexachlorocyclohexane . . . . .	274
J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE: Modification de l'appareil à aération de van Slyke-Cullen et son adaption au microdosage de l'azote protéique après Kjeldahlisation et entraînement à froid de l'ammoniaque (Pro Laboratorio) . . . . .	274
J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE: Modification de la cellule de Conway pour les dosages par microdiffusion (Pro Laboratorio) . . . . .	275

### Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Naturwissenschaft-Religion-Weltanschauung. (Aus der Arbeitstagung des Gmelin-Instituts) (Gmelin-Verlag GmbH. Clausthal-Zellerfeld 1949) (Ref. H. Birkhäuser) . . . . .	276
Atomenergie und ihre Verwertung im Kriege. Von Henry de Wolf Smyth (Ernst-Reinhardt-Verlag, AG., Basel 1947) (Ref. F. Strassmann) . . . . .	277
Fifty Years of Plant Physiology. By Th. Weevers (Scheltema & Holkema's Boekhandel en Uitgeversmaatschappij N. V. Amsterdam 1949) (Ref. A. Frey-Wyßling) . . . . .	277
Schöner Wald in treuer Hand. Von J. B. Bavier (Verlag Sauerländer & Co., Aarau 1949) (Ref. H. Leibundgut) . . . . .	277
Sensory Mechanisms of the Retina. By Ragnar Granit (Oxford University Press, London, New York and Toronto, 1947) (Ref. W. v. Buddenbrock) . . . . .	278
Die Wiederherstellungschirurgie, insbesondere die Verwendung der Rollappenplastik. Von Karl-Ewald Herlin (Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1949) (Ref. H. Heußner) . . . . .	278

### Informations - Informationen - Informazioni - Notes

P. A. MERCIER: La perspective normale, sa découverte au XV <sup>e</sup> siècle (Experientia maiorum) . . . . .	278
T. REICHSTEIN und H. STAUDINGER: Das Aroma des gerösteten Kaffees (Explicationes) . . . . .	280

# EXPERIENTIA



L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications*;
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées*.

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienenen *Bücher*, durch Referate über *Kongresse und Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

## E X P E R .

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.50. Abonnement pour un an fr. 24.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 28.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces:  $\frac{1}{1}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15  
Tél. 498 00; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Luxemburg, Dänemark, Schweden, Norwegen, Finnland, Tschechoslowakei, Portugal und Marokko nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 24.—, im Ausland sFr. 28.—; die Einzelnummer kostet Fr. 2.50.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 x 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind vor dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise:  $\frac{1}{1}$  Seite Fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  Seite Fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15  
Tel. 498 00; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni*;
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports*;
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.50. L'abbonamento annuo è di fr. 24.— per la Svizzera; all'estero fr. 28.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 x 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci:  $\frac{1}{1}$  pag. fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  pag. fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Svizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15  
Tel. 498 00; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15<sup>th</sup> of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.50, by annual subscription by inland-mail fr. 24.—; other countries fr. 28.—. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10<sup>th</sup> of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 x 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising:  $\frac{1}{1}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15  
Phone 498 00; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

### Verzeichnis der Inserenten - Liste des annonceurs - List of Advertisers - Experientia VI/7

CIBA AG., Basel  
Kern & Co. AG., Aarau  
Lonza AG., Basel

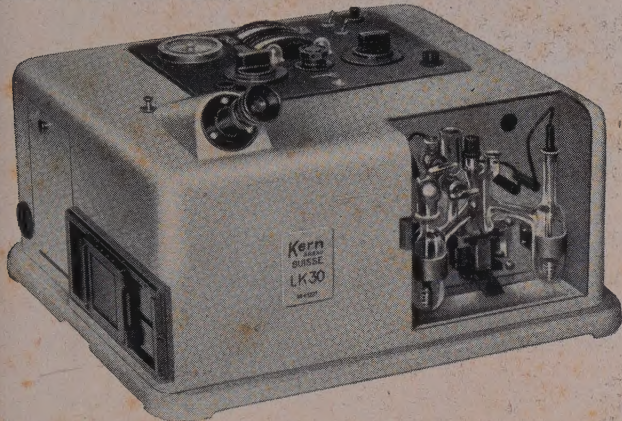
Sauter AG., Basel  
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich  
Birkhäuser AG., Basel

Schwitler AG., Basel  
Verlag Benno Schwabe & Cie., Basel  
Chemie-Verlag, Weinheim

Lüdin AG., Liestal

## Mikro-Elektrophoreseapparat Kern LK 30

mit interferometrischer Ausmessung der Konzentrationsstufen  
(nach Labhart und Staub)



Benötigte Lösungsmenge 0,4 cm<sup>3</sup>. Genauigkeit ca. 2,5% bei 1%iger Lösung. Spiegelreflex-Kamera, automatische Bildnumerierung, kein Thermostat, sofortige Betriebsbereitschaft, Spezialzelle für Diffusionsversuche. Maße: 40 x 46 x 28 cm; Gewicht: 24 kg.

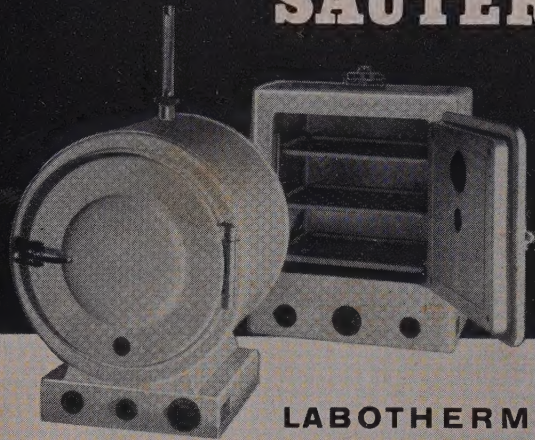
Anwendungen: Serum und Plasma, Rückenmarksliquor, Organ-Eiweiße, Fermente, Immunisierungsvorgänge, Chemie der Hochmolekularen usw. - Prospekt Med. 505/2 auf Verlangen.

**Kern & Co. AG., Aarau**

Werkstätten für Präzisions-Mechanik und Optik  
Gegründet 1819 Telefon (064) 211 12



# SAUTER



**LABOTHERM**

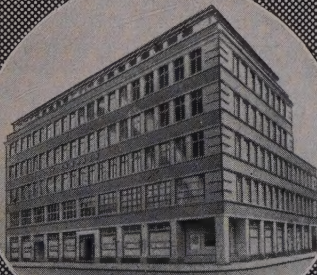
Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

Prüfschränke für Farben und Lacke  
Härteprüfung von Kunststoffen  
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehalt-  
prüfungen, Vorwärmung u.s.w.  
Trockenschränke, Sterilisatoren  
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,  
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL



*E. Schwitter*  
**SCHWITTER A-G**  
BASEL/ZÜRICH



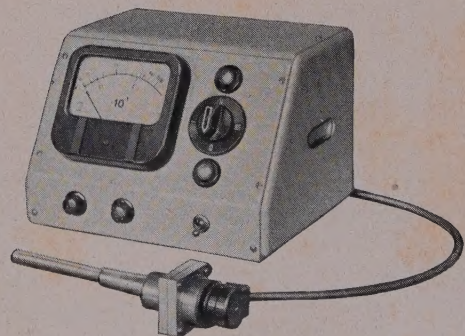
Gerätebau-Anstalt



Balzers (FL.)

## Vakuum-Messgeräte

kontinuierlich anzeigend zwischen  
10<sup>-5</sup> bis 1 mm Hg



Vollkommen unempfindlich gegen Lufteinbrüche in eingeschaltetem Zustand. Einstellzeit max. 2 Sek. Eingebauter Umschalter für Anschluß von 4 Meßzellen, Gerät auch als „Leak-detector“ verwendbar.

Verkaufsorganisation

**Trüb, Täuber & Co. AG. Zürich**

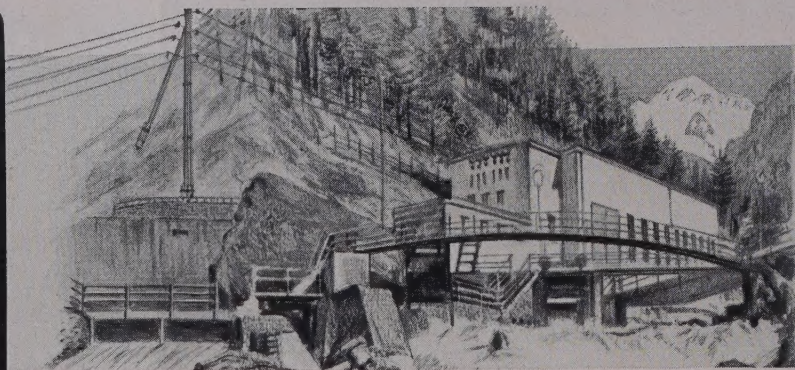
Fabrik elektr. Meßinstrumente und wissenschaftl. Apparate

# LONZA

ELEKTRIZITÄTWERKE  
UND  
CHEMISCHE FABRIKEN A.G.  
BASEL



Karbidofen (Elektrodenfessel) im Werk Visp (Wallis)



Zentrale Gampel III in der Lonzaschlucht

**Calcium-Carbid** für Beleuchtungs-, Heiz- und Schweisszwecke

**Metallegierungen:** Ferrosilicium, Reinsilicium, Silico-Aluminium, Silico-Aluminium-Mangan — Graphit.

**Künstliche Schleifmittel:** Siliciumcarbid, Lonsicar (Siliciumcarbid) für Hartbeton

**Stickstoff-Dünger:** Kalksalpeter, Ammonsalpeter, Ammonsulfat, Kalkstickstoff

**Komplex-Dünger:** Nitrophosphat, Nitrophosphatkali, Volldünger, Composto Lonza

**Chemische Produkte:** Formaldehyd, Acetaldehyd, Crotonaldehyd, Paraldehyd, Essigsäure, Essigsäureanhydrid, Natriumacetat, Dicyandiamid, Ammoniak, Salpetersäure, Nitriersäure, Natriumnitrit, Natriumnitrat, Harnstoff, Ammonnitrat, Nitrobenzol, Anilinöl, Acetanilid

**Organische Lösungsmittel:** Aceton, Äthylacetat, Methyl- und Butylalkohol und deren Acetate, Speziallösungsmittel

**Cellulose-Acetat** in allen Qualitäten

W. R. HESS

o. ö. Prof. der Physiologie an der Universität Zürich

Nobelpreisträger für Physiologie und Medizin 1949

## Die funktionelle Organisation des vegetativen Nervensystems

226 Seiten mit 80 Abbildungen. Leinen Fr. 18.50

Auf Grund unzähliger eigener Experimente und einer genauen Kenntnis der Versuchsergebnisse anderer Wissenschaftler wurde die vorliegende Monographie geschaffen. Mit klarem Blick und objektiver Kritik werden hier die Erfahrungen der modernen physiologischen Erforschung des vegetativen Nervensystems geordnet und gewertet. Die Materie wird in ihrer Vielseitigkeit und in den komplizierten Zusammenhängen und Vorgängen erschöpfend geklärt. Dabei läßt sich der Autor von der gesicherten Empirie leiten, mit deren Hilfe er, mit geschultem Blick das Entscheidende herausgreifend, das System der sich geordnet abspielenden physiologischen Vorgänge aufbaut... Es ergeben sich auf Grund ununterbrochener und einwandfrei durchgeführter Versuchsreihen entscheidende wissenschaftliche Ergebnisse, die als umfangreiche Grundlage für weitere Forschungen der Medizin und Biologie verwendet werden müssen. Darüber hinaus wird hier jedem Arzt und Mediziner ein tiefer Einblick in den zweckmäßigen Aufbau der Organfunktionen und ihrer Regulationen ermöglicht, der zum Gesamtverhältnis des menschlichen Seins unbedingt notwendig ist.

Wiener medizinische Wochenschrift.

## Das Zwischenhirn

### Syndrome, Lokalisationen und Funktionen

188 Seiten. Mit 61 Abbildungen und 21 Tafeln. Leinen Fr. 15.—

Gerade in diesem seinem Aufbau ist das Werk nicht nur als ein Standardwerk moderner Hirnphysiologie über den für die Gesamtvitalität so bedeutungsvollsten Hirnabschnitt des Zwischenhirns zu bezeichnen, es ist gleichzeitig auch ein Standardwerk naturwissenschaftlicher Arbeit und ganzheitlicher Auffassung der Lebensfunktionen mit Einschluß ihrer instinktiv-emotionalen Grundlage, deren wir heute in der Medizin so besonders bedürfen. Das Werk bietet außerdem eine reiche Fülle an neuen, richtungsgebenden Formulierungen und Arbeitsanweisungen für weitere Forschung.

Wiener klinische Wochenschrift.

Zu beziehen durch die Buchhandlungen

BENNO SCHWABE & CO · VERLAG · BASEL

## Compounds of Quinone Structure as Allergens and Cancerogenic Agents

By R. L. MAYER<sup>1</sup>, Summit, N. J.

### 1. Introduction

The widespread use of azo-dyes as coloring agents for fabrics, cosmetics, and foods has recently been the subject of discussions regarding their innocuousness. BAER, MELTZER and MAYER<sup>2</sup>, and MAYER<sup>3</sup> have drawn attention to the possibility that azo-dyes as food colors may be the cause of certain persistent allergic skin reactions of unknown etiology and BAUER and KUHN<sup>4</sup> have discussed the major role that these azo-dyes may play in the increased incidence of cancer.

Certain azo-dyes and closely related aromatic amines and nitro compounds are powerful antigens and frequently cause a variety of persistent allergic reactions such as dermatitis, urticaria, and asthma. Of almost all the allergies of known etiology, those produced by these compounds have a great tendency towards unexpected recurrences, which may be explained by the fact that they comprise a number of cross-sensitizations long considered as independent allergies, each of which is produced by a variety of substances of common use. Similarly conspicuous are the specific toxic manifestations produced by aromatic amines and nitro compounds, especially methemoglobinemia and disturbances in the central nervous system, which in certain instances constitute dangerous occupational hazards.

In addition to the various forms of allergic manifestations and intoxications which they engender, azo-dyes, aromatic amines and nitro compounds are capable of producing atypical cell proliferations and cancer, generally referred to as "aniline cancer" or "butter yellow cancer". From the pathogenetic point of view, this cytological reaction is apparently different from the allergic and purely toxic reactions.

In this review the conditions under which the allergic and cytological reactions occur after contact with these aromatic compounds will be discussed. Since the author believes, that as in the case of intoxications with aromatic amines or nitro com-

pounds, allergic and cytologic reactions are produced not by the unaltered chemicals but by metabolites, certain metabolic transformations which precede the outbreak of the various pathologic manifestation will be considered.

Until now, the formation of methemoglobin brought about by amino and nitro derivatives has been the most generally accepted indicator for their metabolic transformation into certain oxidation or reduction products and intermediates between amines and nitro compounds. But it has been impossible to decide which of the various possible intermediates was most likely to occur or which was instrumental in the formation of methemoglobin. Indeed, the intermediate metabolic transformation products of aromatic amines and nitro compounds are unstable for they have not as yet been isolated or identified with sufficient certitude. In the course of the studies reviewed in this article it became apparent that not only methemoglobinemia, but also allergies and cytological changes may constitute additional useful tools for identifying the intermediates. In fact, allergies and cell proliferations seem to be even more specific reactions than the development of methemoglobinemia.

### 2. Allergic Hypersensitivity to aromatic amines and nitro compounds

Many azo-dyes, aromatic amines and nitro compounds are most powerful sensitizers (MAYER<sup>5</sup>, SCHWARTZ<sup>6</sup>). The most common symptoms are allergies of the skin, especially contact dermatitis and the so-called neuro-dermatitis; a less frequent form is urticaria. Certain amines produce asthma, intestinal symptoms and combinations of these manifestations. Of all the amines, p-phenylenediamine (PPD), technically known as "Ursol", is not only the strongest, but also the most versatile sensitizer; it is one of those very rare antigens capable of producing almost any type of allergy from dermatitis to asthma. Ursol allergy has therefore been intensively studied, clinically as well as experimentally, and Ursol dermatitis was among the first cutaneous

<sup>1</sup> Research Laboratories, Ciba Pharmaceutical Products, Inc., 556 Morris Avenue, Summit, N. J.

<sup>2</sup> R. L. BAER, L. MELTZER, and R. L. MAYER, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 67, 489 (1949).

<sup>3</sup> R. L. MAYER, *J. Allergy* 20, 159 (1949).

<sup>4</sup> K. H. BAUER, *Dtsch. Chirurgenkongreß* 6. 8. 1949, Frankfurt.

<sup>5</sup> R. L. MAYER, *Arch. Dermatol. Syph.* 163, 223 (1931).

<sup>6</sup> L. SCHWARTZ, L. TULIPAN, and S. M. PECK, *Occupational Diseases of the Skin* (Philadelphia, 1947).

allergies to be produced experimentally in guinea pigs (MAYER<sup>7,8</sup>). Allergy produced by PPD regularly crosses over to that induced by a number of other aromatic amines chemically related to PPD.

### 3. The various groups of allergies participating in cross-sensitizations to aromatic amines

The extension of the cross-sensitization under discussion was established by various steps. The first known cases of such cross-sensitization proved to be sensitive simultaneously to certain aromatic amines and azo-dyes (MAYER<sup>8</sup>) and had acquired an allergy by contact with PPD, p-aminophenol, 1-4-diaminophenol, aniline and fabrics or furs treated with these substances, or had been sensitized initially to certain azo-dyes such as aminoazobenzene, aminoazotoluene and their acetyl and diacetyl derivatives used for dyeing fabrics, leather or cosmetic preparations, or intended as therapeutic agents.

A second type of cross-sensitivity to aromatic amines was first described in 1936 by FLANDIN and co-workers<sup>9</sup> and later by TZANCK<sup>10</sup> and SIDI<sup>11</sup>, who encountered patients simultaneously sensitive to PPD, aniline and local anesthetics derived from p-aminobenzoic acid (PABA), such as procaine, orthoform and others. Most of these allergies were acquired by sensitization through the use of certain local anesthetics contained in therapeutic ointments; in rarer instances by contact with furs or hair dyed with PPD.

In a third type of cross-sensitization the patient is hypersensitive simultaneously to local anesthetics of the procaine group and to sulfonamides (PHILLIPS<sup>12</sup>, SULZBERGER and co-workers<sup>13</sup> and ROGERS<sup>14</sup>).

The fourth and last type of cross-sensitization comprises cases simultaneously sensitive to aromatic amines and nitro compounds, as reported by TZANCK<sup>10</sup> and SIDI<sup>11</sup>.

Only one case has been described which broadly embraces all the above-mentioned types and which can be considered as the prototype of this cross-sensitivity: a patient of MELTZER's and BAER's<sup>15</sup> who was specifically hypersensitive to PPD, aniline, azo-dyes, sulfonamides, picric acid, PABA and related local anesthetics (see Fig. 1). The fact that hyper-

sensitivity against the entire group of substances has been detected in only one patient is no proof of the rarity of such cases. It is, on the contrary, very probable

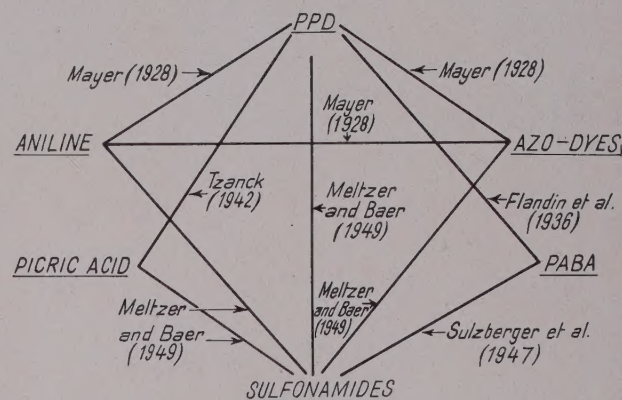


Fig. 1. — Cross-sensitization between aromatic amines, azo-dyes, nitro compounds, sulfonamides, and PABA.

that many of the previously examined cases possessed a broader allergic spectrum than that disclosed by the limited number of tests made.

### 4. Substances participating in sensitizations to aromatic amines and azo-dyes

It has been conclusively shown in the analysis of the various cases that the following substances participate in the cross-sensitization under consideration: (a) aromatic amines, aminophenols, diaminophenols and diamines; (b) azo-dyes containing free or substituted aromatic amino groups; (c) certain aromatic mono- and poly-nitro derivatives and nitrophenols; (d) sulfanilamide and substituted sulfonamides; (e) PABA and its esters. But not all amines and azo-dyes containing free or substituted amino groups proved to be allergenic to the same extent. There is a long series of amines ranging from those which possess both high sensitizing and eliciting powers, to others which lack sensitizing power but are nevertheless elicitors (MAYER<sup>16</sup>) and finally to amines that are allergenically inactive, devoid of both sensitizing and eliciting activity (CALVERY<sup>17</sup>). The most important of the allergenic amines are listed in Tables I, II, and III, which also contain examples of related non-allergenic substances.

All these substances share the following outstanding properties: (1) They contain aromatic amino groups which are readily oxidized, or nitro groups which are easily reduced; it has been established that such substances are metabolized within the organism and excreted to a variable extent, in a chemically altered form. (2) All active substances have low molecular weights and are therefore, from the immunological

<sup>7</sup> R. L. MAYER, Arch. Dermatol. Syph. 163, 223 (1931).

<sup>8</sup> R. L. MAYER, Arch. Dermatol. Syph. 156, 331 (1928); Klin. Wschr., 2. Hälfte, 1958 (1928); Arch. Dermatol. Syph. 153, 266 (1939).

<sup>9</sup> C. FLANDIN, H. RABEAU, and Mlle UKRAINCZYK, Anesth. Analg. 3, 102 (1937); Bull. Soc. franç. Dermat. Syph. 45, 1869 (1938).

<sup>10</sup> B. H. TZANCK, Accidents cutanés etc. (Arnette, Paris 1945).

<sup>11</sup> E. SIDI, Les accidents cutanés etc. (Médicales Flammarion, Paris 1945).

<sup>12</sup> B. PHILLIPS, Brit. J. Dermat. 58, 213 (1946).

<sup>13</sup> M. B. SULZBERGER, A. KANOF, and R. L. BAER, J. Allergy 18, 92 (1947).

<sup>14</sup> E. B. ROGERS, J. A. M. A. 111, 2290 (1938).

<sup>15</sup> L. MELTZER and R. L. BAER, J. Invest. Dermat. 12, 31 (1949).

<sup>16</sup> R. L. MAYER, J. Allergy 20, 159 (1949).

<sup>17</sup> H. O. CALVERY, Amer. J. Pharm. 114, No. 9 (1942).

Table II  
Azo-dyes

A		B	
Allergenic	Reference	Non-allergenic	Reference
Diazoaminobenzene . . . . .	4	Benzol-azo-diphenylamine . . . . .	4
Azoxybenzene . . . . .	4	Benzol-azo-resorcine . . . . .	4
Aminoazobenzene . . . . .	4	2,4,4'-Triaminoazobenzene . . . . .	4
Methylaminoazobenzene . . . . .	4	2,4-3'-Triamino-5'-methylazobenzene . . . . .	4
Dimethylaminoazobenzene . . . . .	4	4-Nitro-4'-diethylaminoazobenzene . . . . .	12
Methyl-orange . . . . .	4		
Amino-azotoluene . . . . .	4		
Acetyl-amino-azotoluene . . . . .	4		
Diacetyl-amino-azotoluene . . . . .	4		
3-Aminobenzene-azo-m-toluidine . . . . .	4		
1-Phenylazo-2-naphthylamine . . . . .	4		
4-Acetylaminobenzene-azo-chlorophenol . . . . .	12		

standpoint, "haptens" and thus unable to sensitize as such. Their antigenicity depends, according to the generally accepted theory, upon their ability to form complexes with "carriers" of high molecular weight (LANDSTEINER<sup>18</sup>).

Table I  
Aromatic amines and nitro compounds

A		B	
Allergenic	Reference	Non-allergenic	Reference
Aniline	4, 6, 8, 12	m-Phenylene-diamine	4
o-Phenylenediamine	4	2,4-Diaminotoluene	4
p-Phenylenediamine	4	2,6-Diaminophenol	4
o-Aminophenol	4	p-Nitrobenzoic acid	12
p-Aminophenol	4	3,5-Dinitrobenzoic acid	12
1,4-Diaminophenol	4		
2,4-Diaminophenol	4		
2,5-Diaminophenol	4		
Nitrobenzene	4, 8, 9, 12		
Picric acid	4, 8, 9, 12		

The inclusion of the various chemical substances such as amines, nitro compounds, sulfonamides and aminobenzoic acid into a single allergic entity can only be explained on the basis that they share a common immunologic denominator. It is evident that this denominator is either the common amino group—preformed or derived from nitro compounds by metabolic

reduction—or an intermediate metabolite which is not an amine.

In a search for the common immunologic property among the different substances it is therefore necessary to analyze: (a) the specific antigenic character of an aromatic amino or nitro group, (b) the antigenic character of the various metabolic transformation products formed from substances containing such groups, and (c) the affinities of the amino or nitro groups and their metabolites for carrier substances.

### 5. The chemical groups responsible for the cross-sensitizations

Certain substances included in this allergy are "immunologically monovalent". They contain only one active group which provokes the formation of specific antibodies; such substances are: aromatic amino or amino-oxy groups as in amines, aminophenols, diamines, diaminophenols, azo-dyes, sulfonamides, and aromatic nitro groups. In these instances the immunological monovalence can be so specific that hypersensitivity is restricted to the sensitizing agent, or it only extends to stereo-isomers, optical isomers and other chemically related compounds (LANDSTEINER and co-workers<sup>19</sup>).

In other instances the antigens contain multiple immunologically active groups, as for instance in the case of local anesthetics derived from PABA, which are composed of at least three or four immunologically active centers (ROTHMAN *et al.*<sup>20</sup>, SCHWARZSCHILD<sup>21</sup>, LADEN and RUBIN<sup>22</sup>). It has been shown that only the hypersensitivity produced by the aminobenzoic acid nucleus of local anesthetics participates in a cross-sensitization to aromatic amines.

<sup>19</sup> K. LANDSTEINER, *The Specificity of Serological Reactions* (Cambridge, 1945).

<sup>20</sup> S. ROTHMAN, F. J. ORLAND, and P. J. FLESCHE, *Invest. Dermat.* 6, 191 (1945).

<sup>21</sup> L. SCHWARZSCHILD, *Arch. Dermat. und Syph.* 156, 432 (1925).

<sup>22</sup> E. L. LADEN and L. RUBIN, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 66, 451 (1947).

<sup>18</sup> K. LANDSTEINER, *The Specificity of Serological Reactions* (Cambridge, 1945).

## 6. Mechanism of action

## I. Metabolic transformations of the antigens

As has been pointed out above, one may assume that the immunologically active component of the molecules of aromatic amines, azo-dyes, sulfonamides and PABA capable of producing the same type of allergic sensitization, is represented either by a common, preformed chemical group or by a common metabolite.

Since the various substances involved in this cross-sensitivity are aromatic amines or nitro compounds which are readily reduced to amines, or azo-dyes yielding aromatic amines upon reduction, many investigators have considered the aromatic amino group, especially a primary amino group in para-position to the other substituents, as the actual offender, and have referred to this allergy as "a cross-sensitization to primary aromatic amino groups" (FLANDIN and co-workers<sup>23</sup>, TZANCK<sup>24</sup>, SIDI<sup>25</sup>, NITTI and co-workers<sup>26</sup>, BAER<sup>27</sup>).

If this explanation were correct, then all or the majority of aromatic amines, particularly compounds having an aromatic amine in the para-position, should participate in this form of allergy. But tests with a great variety of amines and azo-dyes have shown that numerous substances do not elicit allergic reactions in patients sensitive to PPD, aniline, or azo-dyes (see Tables I, II, and III). The conclusion must therefore be drawn that the unaltered primary amino group as such cannot be the directly responsible factor in this sensitization. Furthermore, such an explanation would not necessarily explain the inclusion of certain nitro compounds in this type of cross-sensitization.

The second approach in quest of a common immunological property is the consideration of an intermediate metabolic transformation of the original antigen.

The animal organism can attack chemically all substances involved in this cross-sensitization and excrete them (I) coupled to an organic or inorganic acid or (II) in either an oxidized or reduced form. Aromatic amines undergo two major metabolic transformations: (1) coupling with acids to form acetyl derivatives, ethereal sulfates or glucuronides, and (2) oxidation (STEVENSON *et al.*<sup>28</sup>; lit. see WILLIAMS<sup>29</sup>).

Whereas acetylation and the formation of glucuronides and ethereal sulfates lead to a detoxification of otherwise toxic substances, the oxidation of aromatic

amines, on the contrary, is the prototype of an auto-intoxication.

Closely related to the oxidation of aromatic amines is the reduction of aromatic nitro compounds to amines and oxyamines (MEYER<sup>30</sup>, NEUBERG<sup>31</sup> *et al.*, CHANNON *et al.*<sup>32</sup>, LANDSTEINER and DI SOMMA<sup>33</sup>; lit. see WILLIAMS<sup>34</sup>).

The oxidation of aromatic amines and the reduction of nitro compounds probably occur in several steps. Possible intermediates are phenylhydroxylamines, nitroso compounds, compounds of quinone structure and azoxy derivatives. The formation of methemoglobin by aromatic amines and nitro compounds is explained by HEUBNER *et al.*<sup>35</sup>, ELLINGER<sup>36</sup> and WILLIAMS<sup>34</sup> on the basis of the high oxidizing power of these intermediate oxidation products; but it is almost impossible to decide whether the principal intermediate is a nitroso derivative, a hydroxylamine, a quinone, or a quinone imine. In accordance with this view, RIMINGTON and HEMMINGS<sup>37</sup> formulate the general hypothesis that the chemical grouping necessary for methemoglobin formation is an aromatic amino group, unsubstituted or potentially free, which is capable of undergoing oxidation with the resulting formation of a hydroxylamine derivative or a reversible oxidizing system such as p- or o-quinone imine. By actual chemical isolation ELLINGER<sup>36</sup> has identified tolyl hydroxylamine as a metabolite of aminotoluene, but WILLIAMS<sup>34</sup> has questioned the correctness of this identification. Since no phenylhydroxylamine as such appears in the urine, it is probable that if it is formed it is rearranged to aminophenol before excretion.

Oxidation of ingested PPD by living cells seemingly does not produce a hydroxylamine. According to ERDMANN and VAHLEN<sup>38</sup>, and HEUBNER and MEIER<sup>35</sup>, it is oxidized directly into quinone diimine, which in turn produces the methemoglobinemia.

The biological degradation of azo-dyes is more complicated. Living cells are capable of reducing these substances, using the  $-N=N-$  bond as a hydrogen acceptor and thus splitting the molecule to furnish two aromatic amines. Besides the reductive breakdown of the azo linkage, other metabolic modifications of the azo compound are conceivable, such as formation of hydrazobenzene or oxyazobenzene.

<sup>30</sup> E. MEYER, Z. Physiol. Chem. **46**, 497 (1905).

<sup>31</sup> C. NEUBERG and E. WELDE, Biochem. Z. **67**, 18 (1914).

<sup>32</sup> H. J. CHANNON, G. T. MILLS, and R. T. WILLIAMS, Biochem. J. **38**, 70 (1944).

<sup>33</sup> K. LANDSTEINER and A. A. DI SOMMA, J. Exper. Med. **72**, 361 (1940).

<sup>34</sup> T. WILLIAMS, Detoxication Mechanisms (London, 1947).

<sup>35</sup> W. HEUBNER, Arch. exper. Path. Pharmacol. **72**, 239 (1929). — W. HEUBNER and H. RHODE, Arch. exper. Path. Pharmacol. **100**, 117 (1923). — W. HEUBNER and R. MEIER, Arch. exper. Path. Pharmacol. **100**, 137 (1923).

<sup>36</sup> P. ELLINGER, Z. physiol. Chem. **111**, 186 (1920).

<sup>37</sup> C. RIMINGTON and A. W. HEMMINGS, Biochem. J. **33**, 960 (1939).

<sup>38</sup> E. ERDMANN and E. VAHLEN, Arch. exper. Path. Pharmacol. **53**, 401 (1906).

<sup>23</sup> C. FLANDIN, H. RABEAU, and Mlle UKRAINCZYK, Anesth. et Analg. **3**, 102 (1937); Bull. Soc. franç. Dermat. Syph. **45**, 1869 (1938).

<sup>24</sup> B. H. TZANCK, Accidents cutanés etc. (Arnette, Paris 1945).

<sup>25</sup> E. SIDI, Les accidents cutanés etc. (Médicales Flammarion, Paris 1945).

<sup>26</sup> F. NITTI, D. BOVET, and F. DEPIERRE, Rev. Immunol. **3**, 376 (1937).

<sup>27</sup> R. L. BAER, Arch. Dermat. Syph. **58**, 276 (1948).

<sup>28</sup> E. S. STEVENSON, K. DOBRINER, and C. P. RHODES, Cancer Research **2**, 160 (1942).

<sup>29</sup> T. WILLIAMS, Detoxication Mechanisms (London, 1947).

The mechanism of the metabolic splitting of the  $-N=N-$  group was first described by the author in 1928 (MAYER<sup>39</sup>), in the case of aminoazobenzene.

In 1936 TRÉFOUËL and co-workers<sup>40</sup> described the same reaction in the case of Prontosil and thus discovered the chemotherapeutic action of the liberated sulfanilamide. STEVENSON and co-workers<sup>41</sup> in 1942 detected PPD in the urine after feeding butter yellow.

The metabolic transformation of *sulfonamides* is as yet little understood. As in the case of other amines, acetylation of variable extent is the most common and regular metabolic change.

When in 1937 the author formulated the theory that sulfanilamide undergoes metabolic oxidation to hydroxylamino-sulfanilamide (MAYER<sup>42</sup>, MAYER and OECHSLIN<sup>43</sup>, MAYER<sup>44</sup>), many discussions arose regarding the possible metabolic oxidation of sulfonamides and the role of their oxidation products with respect to toxicity and activity. It was indeed postulated that these oxidation products were responsible for methemoglobinemia.

Various objections to the hydroxylamine theory have been formulated. WILLIAMS<sup>45</sup> has isolated 3-hydroxy sulfonamides from urine after ingestion of sulfanilamide and substituted products such as sulfapyridine and sulfathiazole and considers 3-hydroxy sulfonamide as the actual and only oxidation product of sulfonamides. This view does not seem to be correct. Just as aminophenols in their unchanged chemical state are unable to form methemoglobin, 3-hydroxy sulfonamide similarly cannot produce methemoglobinemia without previous oxidation. It may thus be concluded that, as in the case of the other aromatic amines, the formation of an intermediate labile oxidation product from sulfanilamide is inescapable; the detection of 3-hydroxy sulfonamide in the urine after ingestion of sulfonamide may well constitute proof in favor of the hydroxylamine theory of the sulfonamide oxidation (see also ROSENTHAL and BAUER<sup>46</sup>). WOODS'S<sup>47</sup> theory seemed to replace the hydroxylamine theory with a more suitable explanation regarding the mechanism of action of sulfonamides. The question arises whether the "hydroxylamine theory" of sulfonamides is incompatible with WOODS'S theory. In our opinion, as well as in that of DANN and MÖLLER'S<sup>48</sup>, it

is conceivable that the metabolically formed oxidation products of sulfonamides and PABA, rather than the original amino compounds, compete with each other.

The very fact that sulfonamides participate as active members in a cross-sensitization in which (I) the other participants are PPD and other amines, nitro compounds, aminobenzoic acid, etc. and in which (II) the active antigen is a metabolite formed from PPD and other amines by partial oxidation or from nitro compounds by partial reduction, adds considerable weight to the "oxidation theory" of sulfonamides.

Very little is known regarding the metabolic changes of PABA and its esters. A considerable portion is excreted after acetylation or after formation of glucuronides upon previous oxidation of the acid or the hydrolysis of its esters. However, the fact that PABA participates on the same level as sulfonamides, PPD and other amines in an allergic cross-reaction indicates that its metabolic transformations are similar to those which were discussed in the case of sulfonamides.

In recent studies on the biological transformation of PABA by microorganisms, yellow pigments formed from PABA and its esters and from p-aminosalicylic acid (PAS) by actively growing mycobacteria were observed which very likely are N-oxidation products of PABA and PAS (MAYER<sup>49</sup>). In unpublished experiments, SLOANE and MAYER were able to demonstrate the occurrence of aniline and aminophenol during this reaction.

### 7. Mechanism of action

#### II. The possible role of hydroxylamines and quinone compounds in the immunologic process

We are thus faced with two different metabolic reactions by which an immunologically identical intermediate can be formed from aromatic amines, azo-dyes, and nitro derivatives and which may explain their common sensitizing power: either (1) coupling with acids, namely formation of acetyl derivatives, glucuronides, ethereal sulfates, or (2) the formation of various oxidation and reduction products. Which of these metabolites constitutes the direct antigen?

Whether a substance can be considered as the causative agent for a given allergy is determined either by serological tests (LANDSTEINER<sup>50</sup>) or, in the case of the contact dermatitis type, by direct skin test. In this case the chemical, applied in appropriate concentrations to the skin of an allergic animal or individual, will produce an inflammation if it constitutes the sensitizing agent. This test was employed in the following experiments.

<sup>39</sup> R. L. MAYER, Arch. Dermatol. Syph. 156, 331 (1928).

<sup>40</sup> J. TRÉFOUËL, Mme J. TRÉFOUËL, F. NITTI, and D. BOVET, C. R. Soc. Biol. 120, 756 (1936).

<sup>41</sup> E. S. STEVENSON, K. DOBRINER, and C. P. RHOADS, Cancer Research 2, 160 (1942).

<sup>42</sup> R. L. MAYER, Bull. Acad. Méd., Paris 117, 727 (1937).

<sup>43</sup> R. L. MAYER and C. OECHSLIN, C. R. Soc. Biol. 130, 211 (1939).

<sup>44</sup> R. L. MAYER, C. R. Soc. Biol. 130, 1560, 1562 (1939).

<sup>45</sup> T. WILLIAMS, Biochem. J. 35, 1169 (1941).

<sup>46</sup> S. M. ROSENTHAL and H. BAUER, Public Health Reports 54, 1880 (1939).

<sup>47</sup> D. D. WOODS and P. FIELDER, J. Soc. Chem. Ind. 59, 133 (1940).

<sup>48</sup> O. DANN and E. F. MÖLLER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 82, 76 (1949).

<sup>49</sup> R. L. MAYER, Science 98, 203 (1943); J. Bact. 48, 337 (1944); J. Bact. 48, 93 (1944); Nature, 165, 37 (1950).

<sup>50</sup> K. LANDSTEINER, The Specificity of Serological Reactions (Cambridge, 1945).

(a) *Tests with coupling products*

If the directly active, metabolic transformation product were a coupling product such as acetyl amino derivatives, one would expect that it would produce stronger skin reactions than the non-acetylated, free amines. Skin tests performed with acetyl or diacetyl derivatives of various aromatic amines and azo-dyes on humans or animals sensitive to the free amines have never produced stronger reactions, but rather regularly weaker reactions than the unsubstituted amines (MAYER<sup>51</sup>). From these results it is concluded that this prototype of metabolite does not constitute the direct active antigen and common immunologic property.

(b) *Skin tests with intermediate transformation products of azo-compounds*

Skin tests with hydrazobenzene, oxyazobenzene and 2-4-diaminoazobenzene on PPD-sensitive patients were negative; this has therefore led to the conclusion that no partially reduced or oxidized azo compound of the above-mentioned constitution acts as the common offender in a cross-sensitization in which PPD participates (MAYER<sup>52</sup>).

As shown in the preceding section, hydroxylamines and compounds of quinone structure are probable intermediates formed from various aromatic amines, both groups of substances being very similar from a toxicological standpoint: they are highly reactive and capable of rapidly transforming hemoglobin into methemoglobin. But the fact that these substances have the same pharmacological and toxicological activities does not permit any conclusion as to whether both are involved in this cross-sensitization. On the contrary, pharmacological activity depends upon mechanisms quite different from those involving immunological activity (DOERR<sup>53</sup>).

Table IV

Skin tests with various possible metabolites of aromatic amines on patients sensitive to aromatic amines (MAYER<sup>52</sup>, <sup>54</sup>).

p-Phenylenediamine . . . . .	+ + + +
Amino-azobenzene . . . . .	+ + + +
Phenylhydroxylamine . . . . .	0
Tolylhydroxylamine . . . . .	0
Azoxybenzene . . . . .	0
Quinone-diimine . . . . .	+ + + + +
Quinone-dichlorimine . . . . .	+ + + + +
Bandrowski's base . . . . .	+ + + +
Benzoquinone . . . . .	+ +

In order to identify the chemical nature of the actual antigen and decide the question as to whether hydroxyl-

amines, compounds of quinone structure, or both represent the common denominator in this cross-sensitization, the skin reactivity of individuals and animals sensitive to PPD and azo-dyes was tested with phenylhydroxylamines, tolylhydroxylamine, azoxybenzene, quinone diimine, quinone dichlorimine, Bandrowski's base and benzoquinone. The results obtained are shown in Table IV.

Positive reactions were elicited by quinone diimine, quinone dichlorimine, Bandrowski's base (an oxidation product of PPD inadequately defined chemically and long considered as being a non-irritant end-product of the oxidation of PPD) and benzoquinone. Negative reactions were obtained with the two hydroxylamine derivatives and azoxybenzene. The negative results obtained with phenyl- and tolyl-hydroxylamine strongly suggested that an oxidation of aromatic amines to hydroxylamines or azoxy derivatives was not associated with the antigenic properties of the substances under discussion, although it is supposed to play a major role in the case of methemoglobin formation.

The skin-reactions produced by quinone diimine and quinone dichlorimine, on the contrary, were extremely severe and many times stronger and more persistent than those observed after tests with identical amounts of PPD and aminoazobenzene. Thus the conclusion seems justified that the directly active substances responsible for the allergic cross-sensitization between PPD and azo-dyes are compounds of quinone structure, particularly quinone diimine.

The inclusion of sulfonamides and PABA in a cross-sensitization in which compounds of quinone structure are likely to represent the actual antigens indicates the direction of further investigations on the metabolic fate of these two substances. It is very probable that certain oxidation products such as compounds of quinone structure are formed when sulfonamides as well as PABA are ingested either after previous formation of hydroxylamines or by direct oxidation.

The fact that these postulated intermediates have not been found thus far constitutes no proof that they do not exist. Since immune reactions can be produced by extremely small and chemically undetectable amounts of antigen, the amounts of antigenically active oxidation products formed in the body may be too small to elicit recognizable *toxic* symptoms, although they are large enough to produce sensitization and allergic manifestations.

It must be realized that the present study concerns itself only with the role of compounds of quinone structure in allergy. These experiments do not constitute any direct evidence that compounds with a quinone structure are responsible, for instance, for the chemotherapeutic activity of sulfonamides or PABA.

In Fig. 2 an attempt is made to correlate the metabolic chemical transformation of the various aromatic

<sup>51</sup> R. L. MAYER, Arch. Dermatol. Syph. 163, 223 (1931).

<sup>52</sup> R. L. MAYER, Arch. Dermatol. Syph. 163, 223 (1931).

<sup>53</sup> R. DOERR, Arch. Dermat. Syph. 151, 7 (1929).

<sup>54</sup> R. L. MAYER, Klin. Wschr. 1, 2. Hälfte 1958 (1928); Arch. Dermatol. Syph. 158, 266 (1939).

amines, which may explain their antigenic nature and their participation in a cross-sensitization.

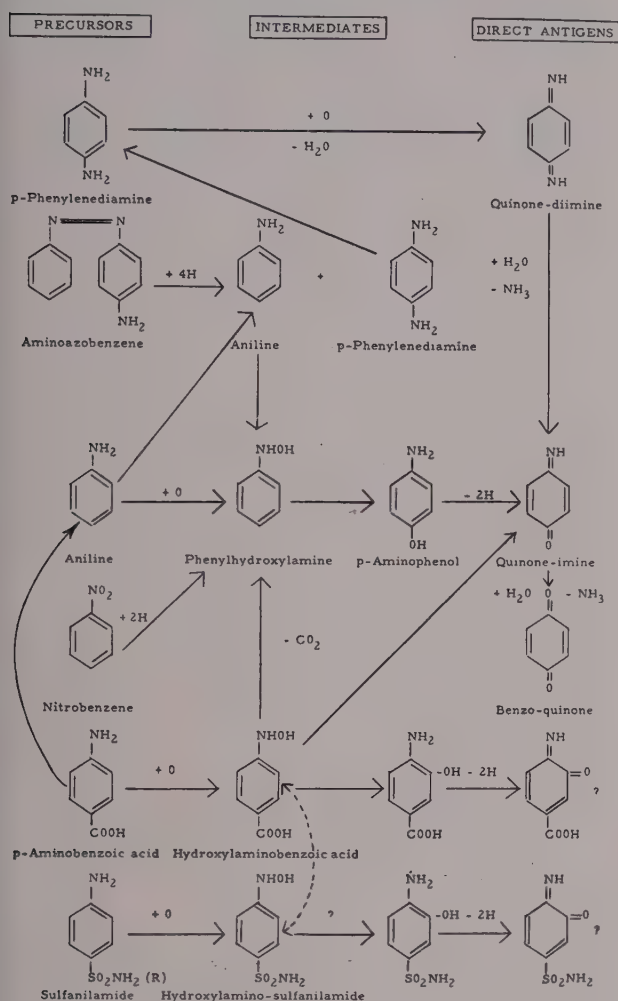


Fig. 2.

### 8. Mechanism of action

#### III. Transformation of the metabolically formed substances into complete antigens

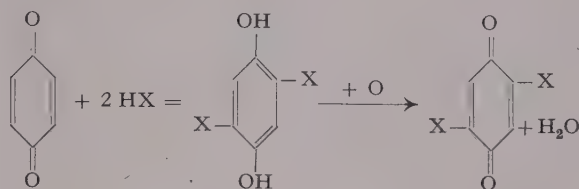
Compounds of low molecular weight are incomplete antigens or "haptens"; they are unable to sensitize unless attached to a carrier of high molecular weight. Only then do they acquire full antigenicity (KLOPSTOCK and SELTER<sup>55</sup>, LANDSTEINER<sup>56</sup>, HEIDELBERGER and KENDALL<sup>57</sup>). The metabolic transformation products of PPD, azo-dyes and other substances into compounds with a quinone structure are still incomplete antigens or "haptens", as are the amines, azo-dyes, or nitro compounds from which they are derived. The question thus arises as to how they become attached to a carrier.

<sup>55</sup> A. KLOPSTOCK and G. E. SELTER, *Z. Immunitätsforsch. exper. Therap.* 55, 118 (1928).

<sup>56</sup> K. LANDSTEINER, *Z. Immunitätsforsch. exper. Therap.* 62, 128 (1929).

<sup>57</sup> M. HEIDELBERGER and F. E. KENDALL, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 26, 482 (1929).

Quinone compounds possess great chemical avidity for combining with a variety of substances (POSNER<sup>58</sup>, FISCHER and SCHRADER<sup>59</sup>, MARTYNOFF and TSATSAS<sup>60</sup>), such as aniline, amines, sulfhydryl compounds, amino acids, alcohols, and many others, according to the following reactions:-



In this process the quinone is converted to hydroquinone but can be subsequently re-oxidized to a substituted quinone. The polymerization of these substituted quinones finally leads to compounds of high molecular weight.

Proteins are among the various body constituents most readily attached to quinones (SUIDA *et al.*<sup>61</sup>). Quinone imines and quinone diimines behave in this respect like benzoquinones and their affinity for various proteins such as animal cells, serum, etc. is especially apparent since the polymerization products resulting from this combination are intensely colored. Very conspicuous is the formation of almost black combination products of quinone diimine with SH-containing proteins, particularly keratin, a reaction which has become of great practical importance in the wide use of PPD and other amines and of their oxidation products, as fur and hair dyes.

The combination of quinones, quinone imines, or quinone diimines with proteins is very rapid. It is this avidity for protein carriers which, in my opinion, not only enables this group of substances to act as sensitizers, but also explains the great power to sensitize.

#### 9. The role of compounds of quinone structure in the cytologic changes following absorption of aromatic amines

In addition to methemoglobin formation and allergic sensitization, certain aromatic amines, azo-dyes and quinones possess another apparently specific biological property: they can produce atypical epithelial proliferations and in some instances malignant growth. The conditions under which these cytological changes occur are indicative of similar metabolic oxidations and transformations to compounds of quinone structure, as disclosed in the case of allergy (cancer of the

<sup>58</sup> T. POSNER, *Liebigs Ann. Ch.* 336, 84 (1904).

<sup>59</sup> E. FISCHER and H. SCHRADER, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 43, 525 (1910).

<sup>60</sup> M. MARTYNOFF and G. TSATSAS, *Bull. Soc. Ch., France*, 1947, p. 52.

<sup>61</sup> H. SUIDA and W. SUIDA, *Liebigs Ann. Ch.* 416, 113 (1918). *Hoppe Seylers physiol. Chemie* 85, 308 (1918).

bladder, oviduct, hepatoma, sarcoma, etc.) (FISCHER<sup>62</sup>, REHN<sup>63</sup>, HUEPER<sup>64</sup>, YAMAGIWA and OHNO<sup>65</sup>, SASAKI and YOSHIDA<sup>66</sup>, KINOSITA<sup>67</sup>, RHOADS<sup>68</sup>, KIRBY and PEACOCK<sup>69</sup>, HAEREM<sup>70</sup>).

In a previous study (MAYER<sup>71</sup>) the metabolic changes of various amines and azo-dyes which accompany or precede this cytologic action have been studied and it was found that the same conditions that are decisive for development of their antigenic nature also determine their action upon epithelial cells. Atypical growth induced by aromatic amines is dependent upon the formation of compounds of quinone structure from the amines or azo-dyes after destruction of the azo linkage and upon the ability of the quinone compound thus formed to combine with cell components (MAYER<sup>71</sup>). Indeed, (1) aromatic amines capable of producing atypical epithelial proliferations are antigenic; conversely those that are incapable of producing cell proliferation cannot induce allergic symptoms; (2) 2,5-diaminotoluene, which is a strong sensitizer, also produced considerable atypical epithelial reactions whereas 2,5-diamino-1,4-xylene, immunologically indifferent in cases of PPD sensitization, was incapable of producing precancerous growth (see Table V).

Table V

Substances tested for allergenic and cell proliferative properties (MAYER<sup>71</sup>)

	Allergy	Epithelial proliferations
p-Phenylenediamine . . . . .	+ + +	+ + +
m-Phenylenediamine . . . . .	0	0
2-5-Diaminotoluene . . . . .	+ + +	+ + +
2-5-Diamino-1-4-xylol . . . . .	0	(0)
Nigrosine . . . . .	0	0
Benzolazodiphenylamine . . . . .	0	(0)
Diacetyl aminoazobenzene . . . . .	+ + +	+ + +
Aminoazobenzol-2-naphthylamine	+ + +	+ + +

In spite of this basic similarity in the metabolic reactions leading to the two types of reactions, there is apparently an important difference between the immunological and cytological activities of the compounds of quinone structure: the "carriers" with which they combine seem to be different in the two

instances. It is known from LANDSTEINER's experiments that in an allergic reaction the chemical nature of the carrier is irrelevant; identical sensitizations in *in vitro* immune reactions can be produced by haptens fixed to very different foreign or body proteins. But in the case of cell proliferation the chemical nature and physiological role of the "carrier" to which the quinone compound becomes fixed seems of greatest importance, e.g. fixation of the active principle to certain constituents of the cell nucleus seems to be necessary for the development of the reaction. There are many indications that atypical cell growth is caused by disturbances in the nuclear organization of the cell.

#### 10. Reaction between compounds of quinone structure and nuclear material

It has been known for a long time that aromatic diamines, especially PPD and its di- and tetramethyl derivatives, specifically stain cell nuclei (WURSTER<sup>72</sup>, UNNA<sup>73</sup>). The color develops slowly and is apparently dependent upon an oxidation of the staining material. This reaction is explained by the fact that quinone rapidly combines with purified desoxyribonucleoprotein, or with organized nucleoproteids such as crystalline tobacco mosaic virus<sup>74</sup>.

Like the viruses, chromosomes contain pure nucleoproteids of different constitution, especially desoxyribonucleoprotein. Therefore chromosomes of the salivary glands of *Drosophila robusta* are progressively and specifically stained by aqueous solutions of quinone diimine. During this reaction the characteristic chromosome bands take on a purplish-brown to almost black color, whereas the protoplasm remains uncolored (MAYER<sup>75</sup>), as seen in Fig. 3.

Since disturbances in the structure and behavior of chromosomes are considered to be the principal causes of atypical cell proliferation and cancer, this affinity of quinone diimine for chromosomes may therefore constitute an important factor in the action of certain aromatic amines and azo-dyes on atypical cell growth.

The question obviously arises as to whether a formation of compounds of quinone structure and their fixation to nuclear material as a probable cause of atypical epithelial proliferation and subsequent malignancy are restricted to the metabolites of aromatic amines and azo-dyes, or whether a similar process can occur with other cancerogenic substances such as phenols, naphthyl derivatives, hydrocarbons, methylcholanthrene and steroid hormones. This is quite pos-

<sup>62</sup> B. FISCHER, Münch. med. Wschr. 53, 2041 (1906); Frankfurt, Z. Pathol. 27, 98 (1922).

<sup>63</sup> REHN, Arch. Klin. Chir. 50, 588 (1895).

<sup>64</sup> W. HUEPER, J. Indust. Hyg. and Toxicol. 20, 46 (1938).

<sup>65</sup> YAMAGIWA and OHNO, Jap. Z. Krebsf. 12, 00 (1918).

<sup>66</sup> F. SASAKI and T. YOSHIDA, Virchows Arch. path. Anat. 295, 175 (1935).

<sup>67</sup> R. KINOSITA, Trans. Japan. Path. Soc. 27, 665 (1937).

<sup>68</sup> C. P. RHOADS, Bull. New York Acad. Med. 18, 53 (1942).

<sup>69</sup> A. H. M. KIRBY and P. P. PEACOCK, J. Path. and Bact. 59, 1 (1947).

<sup>70</sup> A. T. HAEREM, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 45, 536 (1940); 68, 330 (1948).

<sup>71</sup> R. L. MAYER, Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 1, 436 (1930).

<sup>72</sup> C. WURSTER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 19, 3195, 1886; 20, 256 (1887).

<sup>73</sup> P. G. UNNA, Mh. prakt. Dermat. 6, 243 (1887).

<sup>74</sup> We are indebted to Drs. STANLEY and MALKIEL, Rockefeller Institute, Princeton, for supplying the tobacco mosaic virus used in this study.

<sup>75</sup> R. L. MAYER, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 68, 664 (1948).

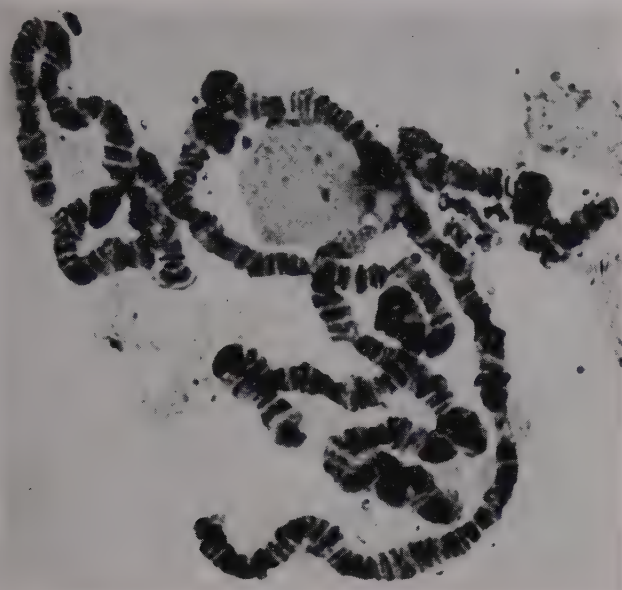


Fig. - 3. Chromosomes of the salivary gland of *Drosophila robusta*, stained with quinone diimine (MAYER<sup>76</sup>).

sible, for it is known that many of these cancerogens are metabolically oxidized to dihydroxy derivatives and quinones and their metabolic behavior is in many respects similar to that of aromatic amines (BOYLAND and co-workers<sup>77</sup>, CASON and FIESER<sup>78</sup>, DOBRINER *et al.*<sup>79</sup>, WEIGERT<sup>80</sup>, BERENBLUM *et al.*<sup>81</sup>, BOYLAND and LEVI<sup>82</sup>). Benzoquinone, for instance, has a specific affinity to nuclear material and its cancerogenic properties have been described by TAKIZAWA<sup>83</sup>.

#### 11. The allergic and cytologic reactions as a biological test for metabolic intermediates

It is obvious that the high specificity of the immunological and cytological reactions can serve as a biochemical tool which permits more precise chemical characterization of unknown metabolites than do other biological, especially toxicological reactions such as development of methemoglobinemia. The inclusion of sulfonamides and derivatives of PABA in an immunological system based upon the presence of intermediate oxidation products of quinone structure is the first example of its practical usefulness. Indeed, the positive allergic reactions produced by sulfonamides and PABA in individuals specifically sensitive to aromatic amines prove that chemical similarities must exist between

their respective metabolites. In this way the allergic reaction may serve as a basis for the detection of biochemical relationships in the same capacity as do the genetical particularities of *Neurospora* (BEADLE and TATUM<sup>84,85</sup>) or the biochemical reactions of bacterial enzymes, as shown by STANIER<sup>86</sup>. The question as to the metabolic formation of a hydroxylamino sulfonamide or similar compound with subsequent oxidation into a quinone imino sulfonamide or its direct formation requires serious consideration. Such a transformation, previously discussed in connection with toxicologic and chemotherapeutic phenomena, is now again postulated from the immunological behavior of sulfonamides. Intimately associated with the question of sulfonamide metabolites is that of the still unknown constitution of biologically active transformation products of PABA.

#### 12. Conclusion

The "cross-sensitization to compounds of quinone structure" is an allergy produced by a large group of various aromatic compounds: aromatic amines and nitro derivatives, certain azo-dyes, sulfonamides, p-aminobenzoic acid and its derivatives, and in some instances to certain polyphenols.

Experimental sensitizations of animals and testing of allergic individuals strongly suggest that the common property of the various chemical substances involved in this special group of allergies is represented by the metabolic formation of oxidation or reduction products, most likely compounds of quinone structure. It is suggested that these metabolites, rather than the original amines; nitro compounds, azo-dyes, sulfonamides or PABA derivatives represent the direct, active antigens. The high affinity of these metabolites for proteins, together with certain still unknown specific properties of quinone compounds and related substances, explain the particularly high sensitizing power of the antigens involved in this allergy.

It is likely that several members of this same group of substances are able to produce atypical epithelial proliferations and malignant growth through a similar mechanism; the metabolic transformation products and not the original, unaltered amines and the strong affinity of the quinoid metabolites for nuclear material, especially chromosomes, appear to be the cause of the cytological changes.

#### Zusammenfassung

Gewisse aromatische Amine, Diamine und Nitroverbindungen, Aminophenole und amidierte Azofarbstoffe sind starke Allergene und verursachen häufig allergische Überempfindlichkeitsreaktionen, wie Der-

<sup>76</sup> R. L. MAYER, Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 1, 436 (1930).

<sup>77</sup> E. BOYLAND, A. A. LEVI, E. H. MAWSON, and E. ROE, Biochem. J. 35, 184 (1941).

<sup>78</sup> J. CASON and L. F. FIESER, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2681 (1946).

<sup>79</sup> K. DOBRINER, C. P. RHODES, and G. I. LAVIN, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 41, 67 (1939).

<sup>80</sup> F. WEIGERT, Nature 155, 479 (1945).

<sup>81</sup> I. BERENBLUM and R. SCHOENTAL, Cancer Res. 3, 145, 688 (1943).

<sup>82</sup> E. BOYLAND and A. A. LEVI, Biochem. J. 29, 2677 (1935); 30, 728, 1225 (1936).

<sup>83</sup> N. TAKIZAWA, Proc. Imperial Academy of Japan 16, 309 (1940).

<sup>84</sup> G. W. BEADLE and E. L. TATUM, Amer. J. Botany 32, 678 (1945).

<sup>85</sup> E. L. TATUM, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 11, 278 (1946).

<sup>86</sup> R. STANIER, 49th Meeting Soc. Amer. Bact., Cincinnati, 1949.

matitis, Konjunktivitis, Urtikaria, Asthma. Die Allergien, welche durch diese verschiedenen Substanzen hervorgerufen werden, sind von dem Autor als «Gruppenüberempfindlichkeit gegen Körper von Chinonstruktur» zusammengefaßt, weil die eigentlichen und direkten Antigene nicht die Amine oder Nitrokörper als solche, sondern Chinonkörper sind, entstanden durch die Oxydation der Amine im intermediären Stoffwechsel.

Es hat sich gezeigt, daß in vielen Fällen von Überempfindlichkeit gegen Paraphenyldiamine auch Sulfonamide und Paraaminobenzoessäure als spezifische Antigene wirken und Hautüberempfindlichkeitserscheinungen hervorrufen. Es muß daher angenommen werden, daß auch Sulfonamide und Paraaminobenzoessäure im Stoffwechsel in Chinonkörper umgewandelt werden können. In der Tat konnte die Bildung derartiger metabolischer Oxydationsprodukte unter verschiedenen Versuchsbedingungen wahrscheinlich gemacht werden.

Alle hier genannten chemischen Substanzen sind selbst nach oxydativer Umwandlung in Chinonkörper unvollständige Antigene, sogenannte Haptene. Nach Ver-

bindung mit hochmolekularen «Schleppersubstanzen» werden Haptene in Vollantigene umgewandelt. Die Chinonkörper haben eine sehr große Affinität zu verschiedenen hochmolekularen Bestandteilen des tierischen Organismus, wie z. B. Polypeptide, Proteine, Lipide, usw., die bekanntlich als Schlepper wirken können. Durch chemische Verbindung der Chinonkörper mit diesen Körperbestandteilen und nachfolgender Polymerisation der Verbindungsprodukte, z. B. von Chinon/Eiweiß-Verbindungen, entstehen Vollantigene.

Es ist bekannt, daß eine große Anzahl der gleichen Amine und Azofarbstoffe Krebserzeuger sind (Anilinkrebs, Buttergelbkrebs), und fast alle aromatischen Amine können atypische epitheliale Wucherungen hervorrufen. Wie im Falle der sensibilisierenden Wirkung ist die Erzeugung atypischer epithelialer Wucherungen von der metabolischen Umwandlung der Amine und Azo-Farbstoffe in Chinonkörper abhängig. In diesem Falle jedoch scheint die Affinität der Chinonkörper zu den Nukleoproteiden der Chromosomen von ausschlaggebender Bedeutung zu sein.

## Die Paläoneurologie am Beginn einer neuen Phase

Von TILLY EDINGER, Cambridge, Mass., USA.<sup>1</sup>

### «Fossile Gehirne»

Wie man lange Zeit nach bestem Wissen sagen konnte «L'homme fossile n'existe pas», so muß man heute gestehen: Fossile Gehirne gibt es nicht. Mumifiziert und geschrumpft in trockenem Klima oder gegerbt und verquollen im Moor hat sich Gehirnschubstanz jahrtausendlang erhalten. Fossilisation ist demnach möglich. Aber alles, was gelegentlich als versteinertes Gehirn beschrieben worden ist, war entweder *lusus naturae* oder die gehirnförmige Steinausfüllung einer fossilen Schädelhöhle, deren lebendiger Inhalt schon verwest war, als der Schlamm oder Sand eindrang, der später zu Stein erhärtete. Solche Steinkerne oder auch künstliche Schädelhöhlenausgüsse meinen wir, wenn wir leichthin von fossilen Gehirnen sprechen. In fossilen Schädeln erhielt sich zwar keine so oder so veränderte Gehirnschubstanz, unverändert aber die Form der Vorzeitgehirne – dadurch daß es ja einst das lebende Gehirn war, das der Innenseite der Schädelkapsel ihre Form gegeben hat.

In der Klasse Mammalia (von der insbesondere hier die Rede sein wird) haben in den meisten Ordnungen all die Teile des Gehirns, die von außen sichtbar sind, durch die Meningen hindurch jedes Detail ihrer Ober-

fläche dem Schädel eingepreßt. Durch die vergleichende Anatomie der rezenten Wirbeltiere wissen wir, in welchem hohen Maße am Gehirn die Form die mikroskopische Struktur, das so sehr verschiedene Größenverhältnis der Teile die jeweilige Bedeutung ihrer respektiven Funktion widerspiegelt. Es ist dadurch völlig klar, daß auch an Hirnschädelausgüssen beispielsweise nicht nur relativ große Riechbulbi scharfem Geruchssinn des ausgestorbenen Tiers entsprechen, sondern natürlich auch, wie bei einem wirklichen Gehirn, ein ausgedehntes und gefurchtes Neopallium mehr Möglichkeit zu geistigen Funktionen – nämlich größere zytoarchitektonische Differenzierung als bei einem kleinen glatten Neopallium – bedeutet. Die Paläoneurologie hat sich um Schlüsse auf Details der ja nicht erhaltenen inneren Struktur bisher kaum bemüht; aber zu solchen ist sie nunmehr auch berechtigt.

### Eisher...

Leser der «Experientia» kennen aus der Paläoneurologie möglicherweise nur KAPPERS' Beitrag zu dem der Stammesgeschichte des Menschen gewidmeten Heft (Vol. II, Fasc. 8, 1946). Manchem mögen sich gefragt haben, ob solcherlei Forschung denn irgendwelchen Wert hat – weshalb sich sogar dieser größte Hirnanatom unserer Zeit mit den Durchmesserindizes und der Anordnung der Furchen am Stirnlappen fossiler Hominiden be-

<sup>1</sup> Museum of Comparative Zoology at Harvard College. – These investigations are being aided by a grant from the Milton Fund of Harvard University.

schäftigt hat? Tatsächlich läßt sich bezweifeln, daß die gefundenen Unterschiede so variabler Züge von Bedeutung sind. Aber man erhofft eben von jedem erkennbaren Detail der Schädelausgüsse von Menschenvorfahren Aufschlüsse darüber, wie die gegenwärtige Spezies der Gattung *Homo* ihre charakteristischste Eigenschaft, ihren *sapiens*-Charakter erworben hat. Vermutlich ist die einzige Tatsache, die wir darüber erfahren können, etwas, das sich in nackten Zeit- und Volumzahlen ausdrücken läßt. Einzigartig in der Geschichte der Tierwelt hat sich in dem für diese Geschichte minimalen Zeitraum von wohl nur einer halben Million Jahren, von der *Pithecanthropus*-stufe zur Neandertalerstufe, ohne erhebliche Zunahme der Körpergröße, das durchschnittliche Hirnvolumen verandert halbfacht. Weiter unten werden wir zwar darauf zu sprechen kommen, daß weder die absolute noch die relative Größe des Gesamthirns eine erkennbare Bedeutung hat; es gibt auch heute *Homo sapiens* mit so großen Gehirnen wie sie *H. neandertalensis* hatte und solche mit Gehirnen von *Pithecanthropus*-Kleinheit. Die Unterschiede der Durchschnittsgrößen des Gehirns von Menschenvorfahren und Menschen sind aber von hoher Bedeutung, denn erstens erfolgte die Vergrößerung durch Volumzunahme des Großhirns allein und durch eine Ausdehnung des Neopalliums, zweitens war sie ein phylogenetischer Vorgang.

Man verdankt es natürlich dem allgemeinen Interesse für die Entstehung des Menschen, daß Paläontologen, Anthropologen oder Anatomen von fast jedem, ja von Scherben der fossilen Hominidenschädel Ausgüsse gemacht haben. Im Gegensatz dazu ist das nichthominide Material der Paläoneurologie mehr oder weniger durch Zufälle zustande gekommen. Unzerdrückte fossile Schädel wurden gelegentlich zum Ausgießen benutzt, wenn sie nicht gerade Unikate waren; zufällig gefundene Schädelhöhlensteinkerne wurden beschrieben. Eine mitteloligozäne Fazies in den USA. besteht aus sehr feinkörnigem Sandstein – daher besitzen viele Sammlungen daraus Schädel, deren Knochen von den schön geformten Steinkernen teilweise abgeblättert und leicht weiter zu entfernen sind. In der Ordnung Sirenia bestand die Schädelkapsel schon immer, wie heute, aus dicken spröden Knochen; deren Innenseite ist fast glatt: Joga cerebralia fehlen ihr, weil der Großhirnmantel niemals Furchen entwickelt hat. Infolgedessen liegt der Steinkern darin wie ein Ei in der Schale und fällt leicht heraus, wenn Natur oder Mensch den Schädel zerbricht. Von dieser Ordnung kennen wir daher eine ganze Anzahl Gehirne aus mehreren Perioden ihrer 50 Millionen Jahre langen Geschichte. Die in harte Steinknollen eingeschlossenen winzigen Cranien der ältesten Wirbeltiere konnten auf keine andere Weise genau untersucht werden als durch Abschleifen und vergrößernde Übertragung der Schiffe auf Wachsplatten. Diesem Umstand verdankt man STENSIÖS prachtvolle Modelle der Hohlräume, die vor

wohl 500 Millionen Jahren vom Gehirn (und Nerven und Sinnesorganen) erfüllt waren: «Gehirne» archaischer Panzerfische. Zwischen diesen ältesten Gehirnen der niedersten Klasse, Agnatha, und dem zuallerletzt entwickelten der höchsten Klasse, Mammalia, dem Menschenhirn der letzten Jahrzehnttausende, ist in den geologischen Zeiträumen und im System der Wirbeltiere die stattliche Anzahl bisher beschriebener fossiler Gehirne zerstreut.

Bei solch unzusammenhängendem Material war nicht viel wissenschaftliches Vergleichen der fossilen Gehirne miteinander möglich (verglichen wurde gewöhnlich das Gehirn möglichst nahe verwandter lebender Tiere), und doch haben schon viele ihre pure Anatomie weit überschreitende Kenntnisse vermittelt. Ähnlichkeit des Gehirns jener Panzerfische mit dem des Neunauges unterstützte die Erkenntnis, daß sie nicht echte Fische gewesen sind, wie man erst geglaubt hatte, sondern Vorfahren der lebenden Zyklosten. Bei dem ältesten befiederten Tier fand sich ein Gehirn, das durchaus nicht dem Typ heutiger Vogelhirne entspricht; *Archaeopteryx* hatte noch das Gehirn seiner Reptilvorfahren. Auch ein ohne Nachkommen ausgestorbenes frühtertiäres Säugetier vom Habitus eines großen Nashorns, *Uintatherium*, hatte ein vom Rhinoceros (Abb. 1C, rechts) sehr verschiedenes Gehirn (Abb. 1D): es war viel primitiver in der Kleinheit

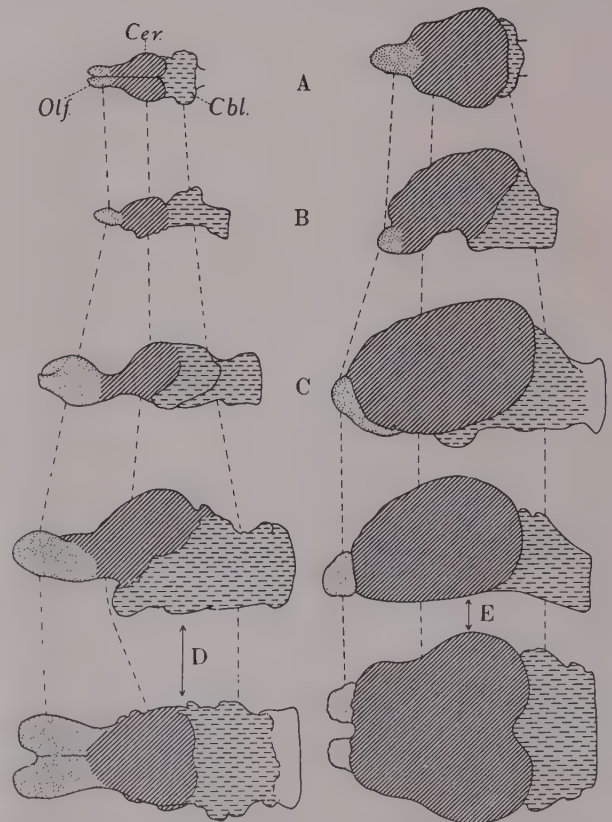


Abb. 1. OSBORN'S «Gehirnproportionen altertümlicher (links) und moderner (rechts) Säugetiere ähnlicher Größe. Riechbulbi gepunktet, Großhirn schraffiert, Kleinhirn + Oblongata gestrichelt». A *Arctocyon-Canis*; B *Phenacodus-Sus*; C *Coryphodon-Rhinoceros*; D *Uintatherium*; E *Menodus*.

des Hemisphärenhirns. Daß das Gesamthirn dieses mitteleozänen Riesen relativ zu Gesamtschädel und Körper relativ klein war, entspricht nur den Verhältnissen bei lebenden Riesensäugern. Ebenso wiederholt sich z. B. die relative Kleinheit des Gehirns großer ausgestorbener Reptilien bei den lebenden Riesenschlangen – das wohlbekannte Phänomen hat nur bei Dinosauriern mehr Aufsehen gemacht. Aber daß bei natürlichen Riesenformen, wie bei krankhaft riesenwüchsigen Menschen, die Hypophyse relativ zum Gehirn sehr groß sein kann, ist an fossilen, an Dinosaurierschädelhöhlen entdeckt worden<sup>1</sup>. Bei einem der größten Dinosaurier macht die Fossa hypophyseos  $\frac{1}{10}$  des Cavum cranii aus. NOPCSA zeigte, daß dies bei kleineren Dinosauriern nicht der Fall ist. Natürlich war an der Beziehung zwischen dem Riesenvolumen der das Wachstum regulierenden Drüse und dem stammesgeschichtlich entwickelten Riesenvuchs nicht zu zweifeln. Die tatsächliche Beobachtung des Zusammenhangs aber hat NOPCSA nicht gemacht: das ihm zur Verfügung stehende Material waren nämlich oberjurassische Vertreter der zwei Dinosaurierstämme, die gleichzeitig gelebt hatten und schon seit der Trias völlig getrennt waren, d. h. es bestand nicht aus Stufen einer Stammesgeschichte.

Als Tatsache ist die Vergrößerung der Hypophyse bei der Evolution von Großformen erst neuerdings beobachtet worden. Neben den Resten eines dem Strauß ähnlichen subfossilen Riesen, *Aepyornis maximus*, findet man auf Madagaskar auch eine Reihe kleinerer Äpyornithiden, aus denen die Riesenart hervorgegangen ist. Während der Entwicklung vom eineinhalb Meter hohen Vogel bis zum 3 m hohen hat das Volumen des Großhirns um  $\frac{4}{5}$  zugenommen; das der Hypophyse hat sich verachtfacht<sup>2</sup>. In der Stammreihe vom schafsgroßen *Mesohippus* zum heutigen Pferd haben sich Länge und Breite des Großhirns verdoppelt; die Länge hat sich auch bei der Hypophyse verdoppelt, die Breite ist aber heute 4–5mal so groß als bei dem oligozänen Pferdchen<sup>3</sup>.

So haben die fossilen Gehirne – meist heute nicht mehr vorkommende Hirnformen – unser Wissen vom Bau der Wirbeltiere schon sehr erweitert. Darüber hinaus aber geht die Aufgabe der Paläoneurologie, die stammesgeschichtliche Entwicklung der Gehirne durch die Zeiten zu verfolgen. Nur die Paläoneurologie hat ja Zugang zu den Dokumenten der *Gehirngeschichte*. Die Nachbarwissenschaften wollten denn auch von der Paläoneurologie – wenn überhaupt etwas – Ergebnisse dieser Art haben. Frühtertiäre Säugergehirne mit den Gehirnen späterer Tiere, die nicht die Nachfahren der frühen Formen waren, vergleichend, haben große Geister auf Material, das wirklichen Geschichtsablauf gar nicht zeigen konnte, große Theorien begründet. Diese Theorien sind in wissenschaftliche Werke und

Lehrbücher verschiedenster Art – bis hinein in die Literatur unsrer Tage – als Fakten übergegangen. Es ist deshalb nötig, das was als Irrtum erkannt worden ist, hier einmal offiziell zu verabschieden.

Irrtümlich war einmal die Vorstellung, daß Wirbeltiere früherer Zeiten «kleine Gehirne» hatten. Sie stammt wohl daher, daß unter den ersten Entdeckungen der Fossilienjäger im amerikanischen mittleren Westen die mesozoischen Riesendinosaurier und die frühtertiären riesigen Endformen ausgestorbener Stämme der Säugetiere am eindrucksvollsten waren. MARSH<sup>1</sup> dekretierte: Alle tertiären Säugetiere hatten kleine Gehirne; das Gehirn der Säuger hat während der Tertiärzeit allmählich an Größe zugenommen, das der Reptilien und Vögel anscheinend seit der Jurazeit. Zum Beweis konstruierte MARSH Zeitserien als scheinbare Entwicklungsreihen mit Schädelausgüssen, die er eben zur Hand hatte. Er zeigte z. B., daß die Gehirnhöhle ein «zunehmend» größerer Teil des Schädels ist, und zwar bei a) dem oben erwähnten größten Landsäuger des Mitteleozäns, *Uintatherium* (Ordnung Dinocerata), b) dem unteroligozänen Riesen *Brontotherium* (Ordnung Perissodactyla, Superfamilie Brontotherioidea), c) dem viel kleineren, lebenden *Equus* (Ordnung Perissodactyla, Superfamilie Equoidea). Nicht nur sind diese Gattungen nicht voneinander abstammend, sondern es ist zufällig auch noch jede von ihnen das Ende einer Stammesgeschichte – einer Evolution, die von den beiden andern seit vielen Millionen Jahren getrennt verlaufen war. Um die Idee allgemein zunehmender Hirngröße und dadurch zunehmender «brain power» *ad absurdum* zu führen, genügt es eigentlich, sich daran zu erinnern, daß das Gehirn kleiner Ponys absolut kaum mehr als halb so groß, relativ zum Körper aber erheblich größer ist als das der Hauspferde.

Was da zu beweisen versucht wurde, war der Glaube an zunehmende Vervollkommnung in der Natur mit dem «Gehirntier» *Homo sapiens* als Krone der Schöpfung. Die Natur sollte ferner jene nie durch Tatsachen belegte Vorstellung bestätigen, daß unter den Kulturmenschen die mit dem größten Gehirn am besten vorankommen. Zuerst war es nur eine von MARSHS Behauptungen, daß während jeder Periode der Vorzeit das Gehirn im Aufstieg begriffener Gruppen größer, das vor dem Aussterben stehender Gruppen kleiner als die Durchschnittsgehirngröße der Zeit war. «Durchschnittsgröße» war ein völlig imaginärer Begriff, aber das Phänomen schien nun einmal präzise ausgedrückt. Das Aussterben von Zweigen und Stämmen von jederlei Getier zu allen Zeiten der Erdgeschichte ist ein ungeheures Rätsel; aber ausgerechnet das Gehirn wurde als «one of the single organs whose development has been a decisive factor in the preservation or extinction of races»<sup>2</sup> angesehen. «The evolution of the Mammalia has proceeded along the lines of an invariable improvement of the higher nervous activity. The main peculiarities in the work of the cortical cells... were the object of natural selection»<sup>3</sup>. In Abb. 1 reproduzieren wir eine Zusammenstellung, die das beweisen sollte. OSBORNS

<sup>1</sup> C. O. MARSH, *On the size of the brain in extinct animals*. Nature 32 (1885); *Brain Growth* (S. 57–67 in: *Dinocerata*. U. S. Geol. Surv. Monogr. 10, 1886).

<sup>2</sup> H. F. OSBORN, *Causes of extinction of the archaic orders of Eocene Mammalia* (S. 172–175 und Fig. 71 in: *The Age of Mammals* (New York, 1910). *Inadaptation of small brain* (S. 881–883 und Taf. 49 in: *The Titanotheres of ancient Wyoming, etc.*, U. S. Geol. Surv. Monogr. 55, 1929).

<sup>3</sup> S. DAVIDENKOV, *Types of nervous system in man, their heredity and evolution*. J. Mental Sci. 93, (1947).

<sup>1</sup> F. NOPCSA, *Die Riesenformen unter den Dinosauriern*. Cbl. Min. Geol. Palaeont. (1917).

<sup>2</sup> T. EDINGER, *The pituitary body in giant animals, fossil and living: A survey and a suggestion*. Quart. Rev. Biol. 17 (1942).

<sup>3</sup> T. EDINGER, *Evolution of the horse brain*. Geol. Soc. Amer. Memoir 25 (1948).

Maßstäbe für die jeweilige «brain capacity» – die im Überleben in der Natur triumphierende Macht – waren: 1. «Absolute size and weight of the brain», 2. «Ratio of brain weight to body weight», aber auch tatsächliche Merkmale fortgeschrittener Gehirne, 3. «Development of convolutions», 4. «Proportions between frontal and parieto-occipital lobes of the cerebrum». OSBORNS Bild stellt die weniger und die mehrbegabten Gehirne von Säugetieren ähnlicher Lebensweise und Größe einander gegenüber, wozu allerdings nebenbei bemerkt werden muß, daß in kaum einem Fall bekannt sein konnte, wie groß das Individuum war, dem das betreffende Gehirn gehört hatte. Die linke Kolonne repräsentiert die Säugetiere älterer Tertiärschichten, «very generally distinguished by small brains... Limited brain power and arrested brain evolution placed these archaic quadrupeds at a great disadvantage.» Aber mit den abgebildeten fossilen Gehirnen kann man zufällig gerade das Gegenteil von dem beweisen, was sie zeigen sollten. Von den vier Vertretern des neurologischen Handikaps sind nur *Coryphodon* und *Uintatherium* ausgestorben – d.h. man hat bisher keine Tiere gefunden, die ihre Nachkommen sein könnten. *Arctocyon* hat zwar als Gattung das Paleozän nicht überlebt; die Form ist aber «nicht gestorben, sondern verwandelt worden»; aus den *Arctocyoniden* haben sich alle späteren Carnivora entwickelt. Und mit ziemlicher Sicherheit wird angenommen<sup>1</sup>, daß paleozäne Phenacodontiden die Ahnen der Perissodactyla sind. Umgekehrt ist gerade mit OSBORNS einzigem Vorzeitbeispiel für Tiere mit vielversprechendem Gehirn, *Menodus*, der Titanotheriidenstamm vor 35 Millionen Jahren ausgestorben. Selbstverständlich kann die Paläoneurologie keinen Beweis dafür erbringen, daß ein hochentwickeltes Gehirn dem Überleben in der Natur günstig ist. Sogar heute, d.h. im Zeitalter des Menschen, sind die zahlreichste Gruppe der Säugetiere die Nager, also eine Gruppe, deren Gehirn auf primitiver Stufe stehengeblieben ist. Das Opossum, ein Beuteltier, das von allen lebenden Säugetieren das primitivste Gehirn besitzt, hat durch die ganze Tertiärzeit hindurch bis heute hier in Nordamerika floriert, wo die Mehrzahl der mit prächtigen Gehirnen begabten höheren Säugetiere vor Beginn der historischen Zeit ausgestorben sind, wie Elefanten, Tiger und Pferde.

Die Paläoneurologie konnte keinen wesentlichen Beitrag zur stammesgeschichtlichen Entwicklung liefern, solange sie Gehirne miteinander verglich, die zwar aus sukzessiven Perioden der Erdgeschichte stammten, aber nicht von Tieren, die sich sukzessive auseinanderentwickelt hatten. Zur Klarstellung einer wirklichen Gehirnevolution müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein. Es muß eine Stammesgeschichte – die Entstehung geologisch jüngerer Formen aus Formen der vorhergehenden Zeit – an der allmählichen Veränderung der Knochen und Zähne zweifelsfrei erkannt worden sein. Die Gehirne möglichst aller Phasen solch eines historischen Ablaufs müssen untersucht werden. Die einzigartige historische Aufgabe der Paläoneurologie konnte also erst in Angriff genommen werden, als die Materialbeschaffung nicht mehr dem Zufall überlassen blieb.

Jetzt...

Der Wendepunkt trat ein, als man die osteologisch und odontologisch so wohl studierte stammesgeschichtliche Entwicklung des Pferdes durch bessere Kenntnis des einzigen erforschbaren Weichorgans, des Gehirns, ergänzt sehen wollte. Zwar waren zuvor aus drei Phasen je ein und aus einer andern Phase drei Steinkerne beschrieben worden. Aber damit kannte man doch nur einzelne Gehirne aus 4 der 9 Gattungen, in die man – inklusive fossile *Equus* – die in der lebenden Spezies *Equus caballus* gipfelnde Stammlinie einteilt. Noch immer ist *Equus* ein «Paradepferd der Abstammungslehre». Die ihm vorausgegangenen Gattungen gehen so ineinander über, daß der Beginn der einen und der Anfang der nächsten anatomisch kaum definierbar ist. Diese Ahnenreihe ist bis zurück in die Schichten, welche die ältesten Unpaarhufer enthalten, festgestellt worden.

Die ältesten Reste der Unterklasse Eutheria der Klasse Mammalia fand man in spätesozoischen Schichten. Diese Unterklasse (die placentalen Säugetiere) bestand also von den Beuteltieren getrennt schon vor wohl 130 Millionen Jahren. Die Ordnungen der Placentalier entwickelten sich auseinander schon zu Beginn der Erdneuzeit (Tertiär und Quartär), im Paleozän. In den darauffolgenden untersten Schichten des Eozäns findet man die Ordnung Perissodactyla bereits in deutlich verschiedene Familien aufgezweigt. Hier hat das kleine *Hyracotherium* (gewöhnlich – aber nach den Nomenklaturregeln unrichtig – Eohippus genannt) an Knochen und Zähnen all die besondern Merkmale, durch deren phylogenetische Fortentwicklung die heutigen Vertreter seiner Familie (Equidae) entstanden sind; die sehr starke Mittelzehe der behuften Füße wird bei seinen immer größeren Nachkommen noch stärker und länger werden, die Seitenzehen werden verlorengehen, die Schnauze wird sich verlängern und die bereits typisch behöckerten Zähne werden komplizierter gebaut und höher werden. Verschiedene Zweige der Equiden entwickelten sich in mehreren Erdteilen und sind ausgestorben. Die *Hyracotherium* mit *Equus* verbindenden Gattungen haben alle in Nordamerika gelebt. Von ihnen haben nun Museen der USA., von der Ostküste bis zur Westküste, Schädelausgüsse machen und Steinkerne präparieren lassen. Nur von einer Gattung, von der überhaupt noch kein ganzer Schädel gefunden ist, konnte natürlich auch kein Gehirn studiert werden; aber von fast allen andern kamen mehrere, bis zu 7 zusammen. So wurde es zum erstenmal möglich, zu sehen, wie sich ein Gehirn in 55 Millionen Jahren verändert hat: vom Untereozän an bis heute<sup>1</sup>.

Daß die Studie dieses einen Falles die oben berichteten Anschauungen der früheren Paläoneurologie

<sup>1</sup> G. G. SIMPSON, *The principles of classification and a classification of mammals*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 85 (1945).

<sup>1</sup> T. EDINGER, *Evolution of the horse brain*, Geol. Soc. Amer. Memoir 25 (1948).

widerlegte, mag nebenbei erwähnt sein. Das Gehirn des kleinen ältesten Equiden war etwa halb so lang als sein Schädel (Pferd: weniger als  $\frac{1}{3}$ ) und auch im Verhältnis zum Körper ganz erheblich größer als das seiner großen Nachkommen; ferner war es äußerst primitiv und hat doch der Lebenskraft der Familie keinen Abbruch getan. Die wesentlichen Ergebnisse der Studie sind anderer Natur.

Die vergleichende Anatomie der heute funktionierenden Gehirne hatte uns gelehrt, daß die Gehirne jeder taxonomischen Gruppe für die ganze Gruppe charakteristische Merkmale aufweisen. Für unsere phylogenetische Betrachtung sind dabei zwei Merkmale am wichtigsten: 1. Je höher ein Tier im System steht («vom Fisch zum Menschen»), einen desto größeren Teil des Gehirns bildet das Großhirn. Unter den Säugetieren ist auch der Umfang des nichtolfaktorischen Teils des Hirnmantels charakteristisch; bei den niederen Säugetieren ist das Riechhirn relativ groß, das Neopallium relativ klein – das Neopallium höherer Säugetiere wie der Huftiere ist umfangreich und gefurcht. 2. Da sich diese oberflächliche Zellschicht nur flächenförmig ausbreiten kann, während die zugehörige Fasermasse sich kubisch ausdehnt, muß sich das Neopallium in Falten legen; es muß je mehr Furchen haben, je größer das Tier ist.

Wir hatten uns angewöhnt, diese Stufenreihe der heutigen Säugetiergehirne so anzusehen, als repräsentierten ihre Stufen die verschiedenen möglichen Phasen stammesgeschichtlicher Hirnentwicklung. Das kann man aber von solchem Material gar nicht erwarten: diese Gehirne gehören ja den momentanen Endformen von Tiergruppen an, deren Fortentwicklung seit langer Zeit von der der andern getrennt und selbständig verlaufen ist. Daß zunehmender Fortschritt in zunehmender Vergrößerung des Großhirns und Ausdehnung seines Neopalliums besteht, hat auch die nunmehr bekannte wirkliche Phylogenese eines Gehirns gezeigt; aber das Wie dieses Vorgangs entsprach in bedeutsamen Einzelheiten nicht den Vorstellungen, die durch «horizontalen» Vergleich, d.h. am Material der Gegenwart gewonnen worden waren.

Um die Bedeutung der «vertikalen» Untersuchungsmethode in der hier geforderten Kürze wenigstens anzudeuten, werden wir in der nun folgenden Übersicht über die Geschichte des Pferdehirns in einigen Perioden «horizontale» Umschau halten – d.h. wir werfen ein paar Seitenblicke auf Gehirne anderer Säuger der betreffenden Zeit. Wir können auch zeigen, was heute aus jenen Gehirnen geworden ist; aber bei fast allen fehlt uns die Kenntnis der Zwischenstufen ihrer Geschichte.

**Untereozän.** – Bei *Hyracotherium* (Abb. 2a) lagen Riechbulbi, Großhirn, Mittelhirn und Kleinhirn hintereinander; die Einsenkung der Steinkernoberseite hinter den Großhirnhemisphären entspricht dem freiliegenden Dach des Mittelhirns. Das Großhirn nahm nur  $\frac{2}{5}$  der Hirnlänge ein; es war weder höher noch breiter als das Kleinhirn. Die Fissura rhinalis verlief etwas über der Mitte der Hemisphärenhöhe: sie ist in der Ansicht von oben zu sehen. Das Neopallium war also nur eine kleine dorsale Kappe. Darin verlaufen auf der rechten Hemisphäre drei seichte, kurze Furchen, auf der linken nur eine. Solche Rechts/links-Verschiedenheit findet man auch an heutigen Gehirnen mit nur einem oder wenigen Sulci. Es ist aber bemerkenswert, daß die Sulci der noch heute primitiven Gehirne (z.B. Abb. 4d) anders liegen als die beim Eohippus. Man darf jene also nicht mehr als Vorläufer der komplizierteren Furchen höherer Säuger betrachten; es scheint vielmehr, daß die Mantelfurchung sich innerhalb jeder Ordnung selbständig entwickelt hat. Die Sulci des Eohippus, in diesem Stadium schwerlich identifizierbar, wurden durch das Verfolgen ihrer späteren Geschichte als die stammesgeschichtlichen Anlagen von drei der vielen Furchen des Equusgehirns erkannt. Die kaum ange deuteten Sulci sind das einzige, was am Eohippusgehirn vielleicht als Spezialisierung angesehen werden kann. Während also in Skelett und Zähnen *Hyracotherium* als Equide spezialisiert war, war sein Gehirn auf einer Entwicklungsstufe sozusagen halbwegs zwischen den Reptilahn der Säuger (mit noch kür-

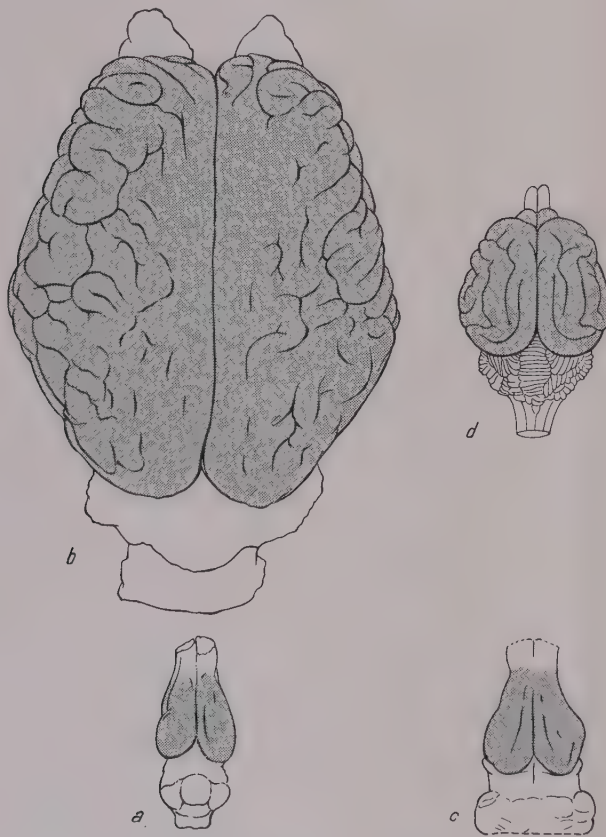


Abb. 2. Equidae (a *Hyracotherium*, b *Equus caballus*) und Carnivora (c *Arctocyon*, d *Felis domestica*) des Fröhertiärs und der Jetztzeit. Hirnschädelausgüsse (d Gehirn) von oben; schattiert: Großhirn;  $\times$  etwa  $\frac{1}{2}$ .

zerem Cerebrum und schmalerem Cerebellum) und *Equus* (Abb. 2b).

Heute hat nur das Beuteltier Opossum ein ähnliches Gehirn; aber die wenigen bisher bekannten paleozänen und untereoänen Placentiergehirne unterscheiden sich vom Eohippusgehirn nur in Details, z. B. kommen breitere Großhirne vor. Sie sind alle ähnlich primitiv, d. h. auf einer Entwicklungsstufe, die ein Zoologe subplacental nennen würde. Abb. 2c ist eine Zeichnung nach einem Gipsabguß (American Museum of Nat. Hist., Nr. 10431) des Pariser Originals eines paleozänen *Arctocyongehirns*, dem Vorder- und Hinterende fehlen. Deutlicher als OSBORNS schematisierte Darstellung wohl desselben Stücks (Abb. 1A, links) zeigt die Zeichnung die große Ähnlichkeit der Gehirne des Urraubtiers und des Urpferdes. Gewiß war *Arctocyon* als Carnivore primitiv, er hatte noch nicht das Brechscheren-Zahnpaar späterer Formen – aber er war spezialisiert als Raubtier, mit spitzigen Backzähnen und scharfen Klauen. Sein Gehirn aber weist eher auf die Ahnen der Raubtiere zurück als daß es Ähnlichkeit mit Raubtiergehirnen der Jetztzeit hätte (Abb. 2d, nach REIGHARD und JENNINGS; 3b, nach SISSON). Es hat dasselbe kurze, weder Bulbi noch Mittelhirn überdeckende, schlanke, kaum gefurchte Großhirn wie *Hyracotherium*; dieses ist hier sogar schmaler als das Cerebellum (an dem der Gipsabguß keine Details erkennen läßt). Übrigens ist auch die Größe dieses paleozänen Gehirns ähnlich der des untereoänen, und dabei entstammt es einem 240 mm langen Schädel, während der zu unserem Eohippusgehirn gehörende Schädel ungefähr 135 mm lang gewesen sein dürfte. Heute sind aber Gehirne soviel größerer Tiere komplizierter gefurcht als die kleineren. Selbst in dem folgenden Zeitabschnitt findet man noch Anzeichen davon, daß nicht nur im Tempo der Spezialisierung, sondern auch in bezug auf Größe die *stammesgeschichtliche Entwicklung des Gehirns vom Körper unabhängig* war. Ein Beispiel ist der mitteleozäne Riese *Uintatherium*: keiner der vielen Untersucher dieses Gehirns (Abb. 1D) hat Sulci entdecken können. Ein weiteres Beispiel liefert die Geschichte der Equiden selber.

**Mitteleozän.** – *Orohippus* war nicht größer als sein unmittelbarer Vorfahre *Hyracotherium*. Am Hinterfuß waren die Rudimente der Zehen I und V verschwunden, aber der Vorderfuß war noch immer vierzehig und die Zähne waren kaum merklich verändert. Im Gegensatz zu diesem fast völligen Stillstand in der Entwicklung der Hartteile hatte sich das Gehirn entscheidend fortentwickelt, die frühere Skelettspezialisierung quasi einholend.

Das Gehirnmaterial dieser Phase besteht nur aus dem Mittelteil einer Großhirnhemisphäre und einem Kleinhirn mit dem anschließenden, vom caudalen Großhirn modellierten Teil des Schädeldachs. Das Mittelhirn war ganz oder fast ganz von der Oberfläche

des Gehirns verschwunden, d. h. durch Großhirnausdehnung überdeckt. Das Neopallium ist nun von richtigen Furchen durchzogen. Die Fossa Sylvii ist angedeutet, eine der beim Eohippus kurzen Furchen verlängert, und ein neuer Sulcus ist aufgetreten in dem untersuchten Abschnitt; weitere mögen in den noch unbekannten Feldern vorhanden sein. Am Kleinhirn war bei Eohippus nur eine Furche erkennbar, vermutlich nur eine vorhanden gewesen: die Fissura prima. Sie teilte die Vermisregion in zwei vordere Drittel und ein hinteres Drittel: die Regio vermiana des Lobus anterior und die Region der Lobi medius + posterior. Der Vorderlappen ist bei *Orohippus* in absoluter Größe unverändert, aber er bildet nun kaum mehr die Hälfte der Vermislänge. Die Fissura prima war vorwärts gerollt durch Ausdehnung des Lobus medius, der sich auch hoch aufgewölbt und in Lobuli untergeteilt hat.

Als ich die zwei Gehirnfragmente von *Orohippus* beschrieb, war ich mir über den Zusammenhang zwischen dem am Großhirnstück angedeuteten Fortschritt (stärkere Furchung = größere zytoarchitektonische Differenzierung) und dem am Kleinhirn beobachteten (größerer Lobus medius) nicht klar. In der Übersicht über die Serie der Großhirne von *Hyracotherium* bis *Equus* habe ich mir eine vorsichtige Vermutung erlaubt<sup>1</sup>: Vielleicht dürfe man aus der Veränderung der Form des Stirnlappens – vgl. Abb. 2a mit b, 4a mit b! – schließen, daß sich Stirnlappen-Cortex innerhalb der Equidenstammesgeschichte entwickelt habe, daß also am schmalen Vorderende der Eohippushemisphären motorische Felder lagen. Nun ist zwar gerade von *Orohippus* die Form des Stirnlappens nicht bekannt; aber nach der Lektüre der Werke von LARSELL<sup>2</sup> sehe ich, daß auch die Erwerbung von Regio frontalis Cortex zu den Fortschritten des *Orohippus*stadiums gehört haben muß. Im Kleinhirn enden nämlich die vom Neopallium (via Pons) ankommenden Fasern im Mittellappen. «In the phylogenetic scale», wie LARSELL die Reihe der niederen und höheren rezenten Säuger nennt, «the median lobe... remains relatively small until the fronto-ponto-cerebellar connections are made». Dies muß auch die Bedeutung der mitteleozänen Vergrößerung des Lobus medius in der wirklichen phylogenetischen Stufenreihe der Equiden sein: er hat nun neue, und zwar vom Stirnlappen kommende Verbindungen. Die Beobachtungen an dem Großhirnfragment und dem Kleinhirn von *Orohippus* zusammen genommen geben uns also Einblick in nichts Geringeres als in Unterschiede der Zell- und Faseranatomie der zwei frühesten Phasen des Equidengehirns.

Die abgebildeten Gehirne von Zeitgenossen des *Orohippus* entstammen anderen Ordnungen. Abb. 3a, DENISONS etwas schematisierte Darstellung eines Steinkerns von *Thinocyon* aus einer ausgestorbenen Infraordnung der Carnivora, zeigt, daß zumindest ein kleines Raubtier, eins mit schon spezialisiertem Brechscheregebiss und gespaltenen Endphalangen, im Mitteleozän noch ein sehr primitives Gehirn haben konnte. Vom Gehirn heutiger Raubtiere (wie Abb. 3b)

<sup>1</sup> T. EDINGER, *Evolution of the horse brain*, Geol. Soc. Amer. Memoir 25, 123 (1948).

<sup>2</sup> Z. B. O. LARSELL, *Comparative neurology and present knowledge of the cerebellum*, Bull. Minnesota Med. Found. 5 (1945).

war nur ein langer Sulcus vorhanden. Zu dieser Zeit hatte selbst ein ungulater Riese ein primitives Gehirn (Abb. 1D). Aber das andere abgebildete mitteleozäne Gehirn warnt vor Verallgemeinerung dieser Verhältnisse.

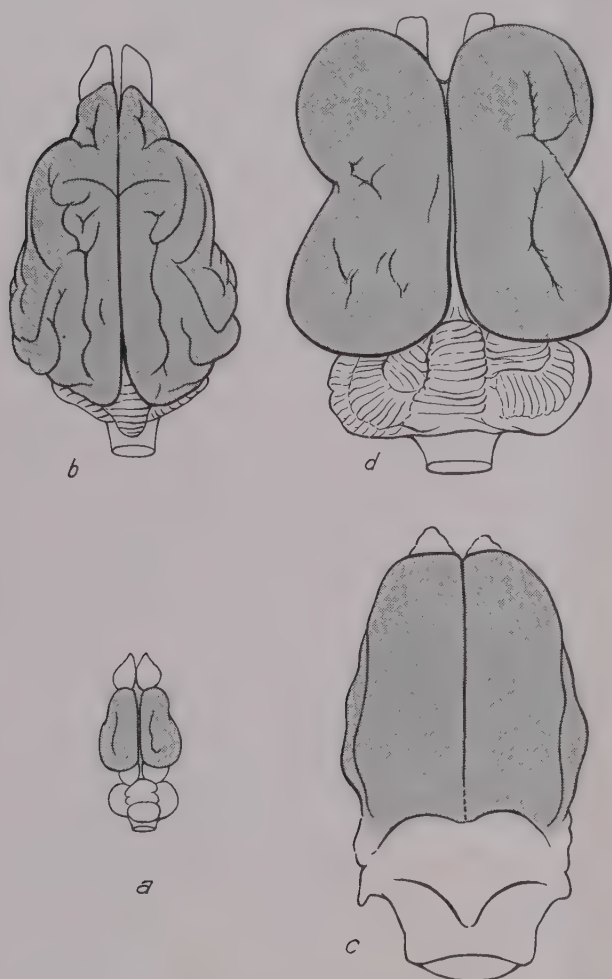


Abb. 3. Carnivora (a *Thinocyon*, b *Canis familiaris*) und Dugongidae (c *Eotherium*, d *Halicore dugong*) des Mitteleozäns (Hirnschädelausgüsse) und der Jetztzeit (Gehirne), von oben; schattiert: Großhirn;  $\times$  etwa  $\frac{1}{2}$ .

Der Steinkern einer Schädelhöhle der ältesten Seekühe (Abb. 3c, nach OWENS 75 Jahre alter, nicht ganz klarer Abbildung) entspricht einem spezialisierten Gehirn. Das umfangreiche, aber glatte Großhirn, subquadratisch im Umriß, überlagert das Mittelhirn und einen proximalen Teil der Bulbi. Diese sind bereits reduziert, wie auch der Körperbau schon aquatisch angepaßt war. Dieser Steinkern war ein isolierter Fund, ohne begleitende Knochen oder Zähne; das mitteleozäne Gehirn war schon so typisch, daß auf dies Stück allein die Gattung *Eotherium*, Familie Dugongidae, Ordnung Sirenia, richtig begründet wurde. Dies Gehirn war in allem Wesentlichen schon dasselbe wie das der heute, also 50 Millionen Jahre später lebenden Nachkommen (Abb. 3d, nach DEXLER; die Linien auf dem Neopallium entsprechen nicht Sulci, sondern

Gefäßeindrücken). Man kann höchstens die Verbreiterung des Frontalteils der glatten Hemisphären als Fortschritt ansehen.

**Mitteloligozän.** – Die obereozäne Phase der Entwicklung des Pferdehirns ist noch nicht bekannt. Zwischen *Orohippus* und dem unter- und mitteloligozänen *Mesohippus* liegen große Fortschritte der Gehirnevolution. Im *Mesohippus*gehirn (Abb. 4a) dominiert das Großhirn; es hat begonnen, das Kleinhirn zu überlagern und besitzt alle Hauptsulci des *Equus*gehirns, allerdings als meist gerade und unverzweigte Furchen. Tatsächlich sind *Mesohippus*gehirne früher als «modern» beschrieben worden. Im *Hyracotherium/Equus*-Zusammenhang betrachtet sind sie es aber nicht; es ist mit eins der wichtigsten Ergebnisse der hirngeschichtlichen Studie, daß sie die Augen dafür öffnete, an diesem und andern oligozänen Gehirnen nun gewisse Züge zu sehen, die an rezenten Gehirnen in dieser Kombination nicht vorkommen. Wohl hat sich der Lobus medius cerebelli durch Breitenzunahme stark vergrößert, aber die Fissura prima liegt noch immer weiter caudal als beim Pferd. Wohl hatte sich bei *Mesohippus* ein (im Vergleich mit *Eohippus*) breiter und gewölbter Stirnlappen entwickelt; er reicht aber nicht über die Bulbi – unter den lebenden Huftieren ist dieser Zustand anscheinend nur beim Tapir bekannt. Wohl ist das Neopallium tief gefurcht, etwa so wie heute bei Huftieren kleinerer Statur; es reicht aber noch immer nicht über die Hemisphärenmitte herunter – wie heute am fast ungefurchten Hirn von Nagern und Insektivoren –, während bei den heutigen Huftieren die Fissura rhinalis auf der Unterseite des Gehirns liegt (Abb. 4b, Eiszeitpferd *Equus occidentalis*). Die hohe Lage der F. rhinalis gibt betreffs der oben erwähnten Erklärung der Furchung zu denken. In der Stammesgeschichte des Pferdes (und anderer Huftiere) hat sich der Hirnmantel durch Einfaltung vergrößert, als seinem Vorrücken auf der Oberfläche offenbar gar

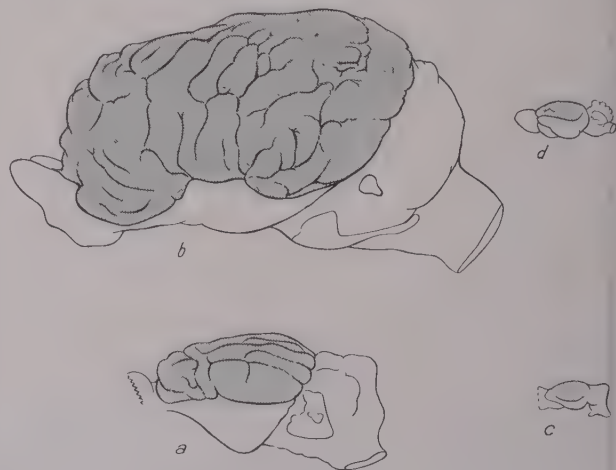


Abb. 4. Equidae (a *Mesohippus*, b *Equus occidentalis*) und Erinaceoidea (c *Ictops*, d *Gymnura rafflesi*) des Mitteloligozäns und der Neuzeit. Hirnschädelausgüsse (d Gehirn) von links; schattiert: Neopallium;  $\times$   $\frac{1}{3}$ .

nichts im Wege stand, d. h. als dies stammesgeschichtliche Vorrücken noch im Gang war.

Das Insektivorengehirn (Abb. 4d nach LE GROS CLARK) ist eines der rezenten Gehirne, das in für heute primitive Placentaler typischer Weise hochgelegene F. rhinalis, windungsloses Neopallium und große vorstehende Bulbi verbindet. Soweit man nach TILNEYS Abbildung des Steinkerns eines gleichfalls igelartigen Tiers der *Mesohippus*-zeit (Abb. 4c) urteilen kann, ist es ein kaum oder gar nicht verändertes Gehirn, mit dem diese Gruppe seit 35 Millionen Jahren blüht und gedeiht. Dies steht im Einklang damit, daß die Insektivoren ja überhaupt die primitivsten Placentaler geblieben sind. Die Veränderungen der Knochen und Zähne der Equiden im gleichen Zeitabschnitt sind als Funktionen der zunehmenden Körpergröße erklärt worden. Diese Korrelation ist in der Fortentwicklung des Gehirns zunächst nicht so deutlich.

*Oberoligozän bis heute.* – Der oberoligozäne *Miohippus* war erheblich größer als *Mesohippus*. Das einzige aus diesem Stadium bekannte Vorderhirn zeigt in der Fissuration minimalen Fortschritt – immerhin das erste Auftreten einer Nebenfurche, als kurzen Strich. In der folgenden Gattung *Parahippus* hat sich das Neopallium auf die basale Fläche ausgedehnt, Verbindungen zwischen den Hauptfurchen beginnen die Windungen aufzuteilen, und die Hemisphären werden deutlich höher gewölbt als die Bulbi. *Merychippus* war der erste funktionell einzeilige Equide, und in dieser Gattung begann auch die Verlängerung der Schnauze und das Höherwerden der Zähne; hier traten zum erstenmal Gehirne auf, wie sie ein lebendes Huftier dieser Größe haben könnte. Das Cerebellum war zu  $\frac{1}{3}$  vom Großhirn überlagert, ein breiter hoher Stirnlappen begann die Bulbi zu überwölben, und ein kompliziertes Furchennetz wurde entwickelt. Von da an, also erst seit etwa 15 Millionen Jahren, entsprechen die phylogenetischen Stadien des Gehirns der immer größer werdenden Equiden wohl den Unterschieden zwischen Gehirnen kleiner/primitiver und größerer/fortgeschrittener, nahe verwandter, lebender höherer Säugetiere. Auch die Gehirne der andern Säugetiere des Spättertiärs sind «modern». Doch liefert auch das Studium dieser Spätzeit der Gehirnentwicklung noch Ergänzungen zu den aus rezentem Material gezogenen Schlüssen. Ebenso wenig wie den Furchungstyp darf man von nun an den Umfang des Stirnlappens als Charakteristikum einer Säugerfamilie betrachten; innerhalb der Familie Equidae hat sich der Frontalteil der Großhirnhemisphären viel mehr vergrößert als die hinteren Großhirnregionen, und zwar in den letzten Phasen besonders durch Höhenzunahme. Die Bulbi sind dadurch in eine basale Lage gekommen und neben dem nunmehr sozusagen ungeheuren Großhirn unscheinbar geworden (Abb. 4b). Dabei hat aber in der Equidenphylogenese das Volumen der Bulbi etwa so zugenommen wie das der Oblongata, deren Zunahme der zu-

nehmenden Körpergröße entsprach. Es muß also auch die anthropozentrische Vorstellung aufgegeben werden, der zufolge Reduktion der Riechzentren eine Begleiterscheinung jeder progressiven Hirnentwicklung gewesen sein soll.

Solch unberechtigte Verallgemeinerung einiger Befunde der vergleichenden Hirnanatomie und die oben berichteten der früheren Paläoneurologie warnen genugsam davor, aus den hier erzählten wirklichen Stammesgeschichten verallgemeinernde Schlüsse zu ziehen. Am Beginn ihrer neuen Phase kennt die Paläoneurologie mit all ihrem Material doch nur einen kleinen Prozentsatz der Gehirne fossiler Wirbeltiergattungen. Ferner sind manche Stücke unzulänglich beschrieben; selbst unter den wenigen, von denen hier die Rede war, mußte von einigen angedeutet werden, daß eine neue Untersuchung frühere Befunde wohl ergänzen würde. Auch müßten wir eigentlich von jeder Gattung mehrere Gehirne haben; das Eohippusgehirn gleicht, nach den eineinhalb vorliegenden Stücken beurteilt, dem durchschnittlichen Opossumgehirn – da aber vom Opossum viele Gehirne untersucht wurden und werden, wissen wir, daß da ausnahmsweise völlige Mittelhirnüberlagerung vorkommen kann. Gerade aus der Frühzeit der Säugetiere hat die Paläoneurologie besonders wenig Material. An allen paleozänen und untereozänen Gehirnen, die ich gesehen habe, ist das Großhirn unvergleichlich kleiner als an den Gehirnen vergleichbarer heutiger Tiere. Deshalb kommt es mir vor, als sei das Gehirn der Placentaler überhaupt unzählige Millionen Jahre nach der Differenzierung der Ordnungen primitiv geblieben. MARSH, OSBORN c. s. hätten dann also recht gehabt, wenn sie nicht von Körpergrößen, nicht von Gehirnpotenz, nicht vom Gesamthirn, sondern nur vom Großhirn, nicht vom Tertiär, sondern nur von dessen ältesten Schichten geschrieben hätten.

Jene primitiven Gehirne differenzierter Säuger waren nicht ganz undifferenziert. Sie waren nicht gleich, aber es bestand eine Gleichheit in der niederen – von der heutigen Zeit aus beurteilt – subplacentalen Entwicklungsstufe. Ein persönliches Erlebnis mag dies illustrieren.

Neulich zeigte mir in Chicago Kollege PATTERSON einen Stein mit der Frage: «What do you think this is?» Ich antwortete: «The endocranial cast of a very early, very large mammal.» Dieser Steinkern entstammte tatsächlich einem spätpaleozänen Schädelfragment aus der Ordnung Pantodonta; er repräsentierte also das Gehirn eines der größten Huftiere jener Zeit. Nun war an diesem Stück die Kleinhirn- und (evtl.) Mittelhirnregion rau, d. h. nicht modelliert, und ohne die Bulbi, welche fehlen, ist es nur etwa eineinhalbmal so lang wie das Gehirn des viel kleineren Eohippus. Daß ich trotzdem richtig geraten hatte, beruhte auf folgenden drei

auffälligen Eigenschaften. Dies Gehirn war erheblich umfangreicher als das von Eohippus, und zwar vorwiegend durch das Volumen der Oblongata; deren beide Durchmesser am Foramen magnum sind das Vierfache von *Hyracotherium*, und damit liegen sie in der Variationsbreite von *Equus*. Das Großhirn war anscheinend nicht gefurcht, und es ist zwar doppelt so breit als das von Eohippus, aber es ist nur  $\frac{1}{3}$  höher und  $\frac{1}{3}$  länger – d.h. es war ein geradezu winziger Teil des Gesamthirns. Der Ausguß der Sella turcica ist, wie die Hypophyse beim Pferd – aber nicht bei dessen kleineren Ahnen – herzförmig; der Vorderlappen der Hypophyse dieses *Haplolambda* (?) war fast halb so breit als sein Großhirn! – Hier hatte sich also die Anwendung von Ergebnissen der Pferdestudie als richtig erwiesen. Aber die Paläoneurologie beginnt ja eben erst mit solcherlei Forschung. Neues Material wird nicht nur unsere Kenntnis wirklich phylogenetischer Entwicklung der Gehirne erweitern, sondern auch den Geltungsbereich im Augenblick scheinbar gesicherter Ergebnisse einschränken.

#### Summary

The material of paleoneurology has been assembled more or less by chance. Representing a random assort-

ment of brains of various fossil vertebrates from different geological horizons, it was not a reliable basis for that special task of paleoneurology, the study of brain evolution through the ages. A new phase began for paleoneurology when the collaboration of American museums resulted in the preparation of endocranial casts from almost every stage of the well-established evolutionary history of the horse. Now it was possible to follow the evolution of a brain through a period of about 55 million years. In the gradual transformation of the *Hyracotherium* brain into that of *Equus* the main feature was found to have been greater expansion of cerebrum, neopallium and corresponding portion of the cerebellum than of the other brain portions. Comparison of the brains today characteristic of lower placental mammals with those today characteristic of the higher forms had suggested that this is the main trend in progressive brain evolution. However, *Hyracotherium* (and other early Tertiary representatives of the higher, specialized eutherian orders) had a brain which had not yet reached the evolutionary level of even the most primitive of Recent eutherian brains. The characteristics of the *Equus* brain were not present in the Equidae for the greater part of this family's history. In their gradual development, the equid brain passed through evolutionary stages which are not represented in the series of Recent mammal brains, until about 15 million years ago it reached the Recent level of ungulate brain evolution. The various results of this one investigation indicate that more studies of such phyletic brain histories will reveal further, still unknown data on brains and on evolution in general, facts of a kind which only a purposeful paleoneurology can furnish.

## Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Mechanism of the Photocondensation of Steroids<sup>1</sup>

During the course of some related work, a study was made of the photocondensation of steroids and a mechanism evolved which appears to explain all the known data on this reaction and predicts possibilities for future work.

WINDAUS and BORGEAUD<sup>2</sup> found that ergosterol (I) undergoes dehydrogenation and condensation when exposed to light in the

absence of oxygen and in the presence of certain sensitizers (such as fluorescein or eosin). The sensitizer also acts as hydrogen acceptor. The dimer, bisergostadienol (II), (at first erroneously named "ergopinacol") on pyrolysis, produces a new compound, neo-ergosterol (III). From the known structure of neo-ergosterol<sup>1 2</sup>, INHOFFEN<sup>3</sup> deduced a formula for bisergostadienol. His sole basis was SCHMIDT's double bond rule, which states that on pyrolytic rupture a bond once removed from a double bond is preferentially broken. The formula accounts for the scission both at the 7·7' bond and at the angular C-10 methyl groups.

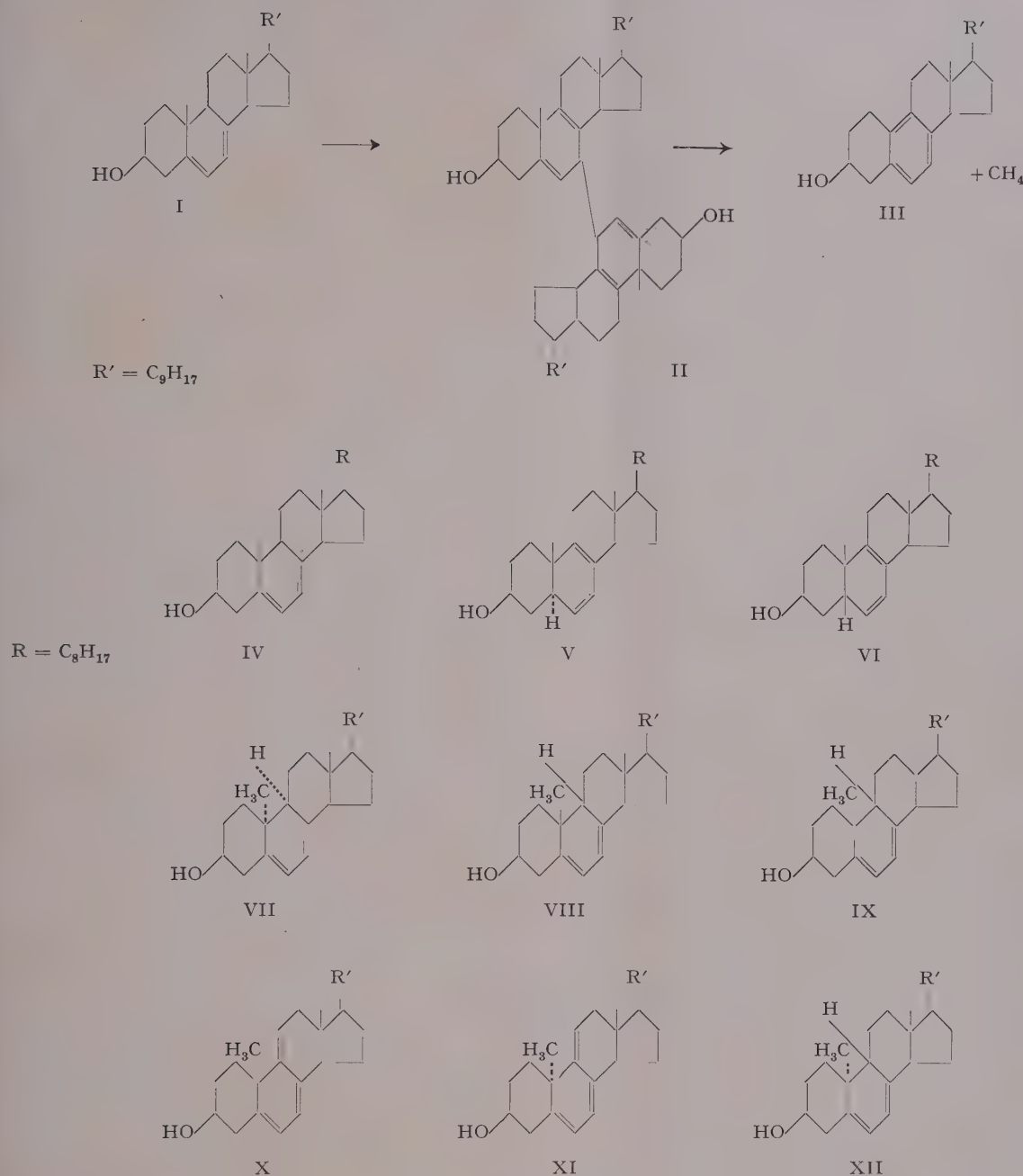
<sup>1</sup> Abstracted from the dissertation which is being submitted to the Faculty of the Graduate School of the Polytechnic Institute of Brooklyn in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy.

<sup>2</sup> A. WINDAUS and P. BORGEAUD, Ann. Chem. 460, 235 (1928).

<sup>1</sup> KURT BONSTEDT, Z. Physiol. Chem. 185, 165 (1929).

<sup>2</sup> H. HONIGMANN, Ann. Chem. 511, 292 (1934).

<sup>3</sup> HANS H. INHOFFEN, Naturwissenschaften 25, 125 (1937).



In 1936 SCHENCK *et al.*<sup>1</sup> in Germany and URISHIBARA and ANDO<sup>2</sup> in Japan found a similar dimerization for 7-dehydrocholesterol (IV), and an analogous pyrolysis product, norsterol. They assumed a structure for the bisteroid parallel to INHOFFEN's formula for the ergosterol dimer.

WINDAUS and ZUHLSDORF<sup>3</sup> obtained the same dimolecular steroid from  $\Delta^{6,8}$ -cholestadienol (V) and  $\Delta^{6,8}$ -coprostadienol (VI) as had been isolated from 7-dehydrocholesterol.

TOMINAYA<sup>4</sup> showed that the hydroxyl group at C-3 is superfluous for this photodimerization when he found that irradiation of  $\Delta^{6,7}$ -cholestadiene led to the formation of a bisteroid.

KENNEDY and SPRING<sup>1</sup> utilized the capacity of several ergosterol isomers to undergo this photochemical reaction as an aid in determining their spatial configuration at C-9 and C-10. The inability of lumisterol (VII) and isopyrociferol (VIII), and the ability of ergosterol (IX), dehydroergosterol (X), dehydrolumisterol (XI) and pyrociferol (XII) to condense photochemically point to the steric relationship of the methyl at C-10 and the hydrogen at C-9 as the determining factors. These groups were taken to be trans in the isomers that gave dimers (IX and XII) and cis in those that did not (VII and VIII).

Steroids with unsaturation in ring A have also been subjected to this reaction. JACOBSEN and NAWROCKI<sup>2</sup> exposed  $\Delta^{2,4}$ -cholestadiene (XIII) to tungsten light and obtained a dimolecular product, for which a 3,3' bond was suggested.

<sup>1</sup> FR. SCHENCK, K. BUCHOLZ, and O. WIESE, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 69, 2696 (1936).

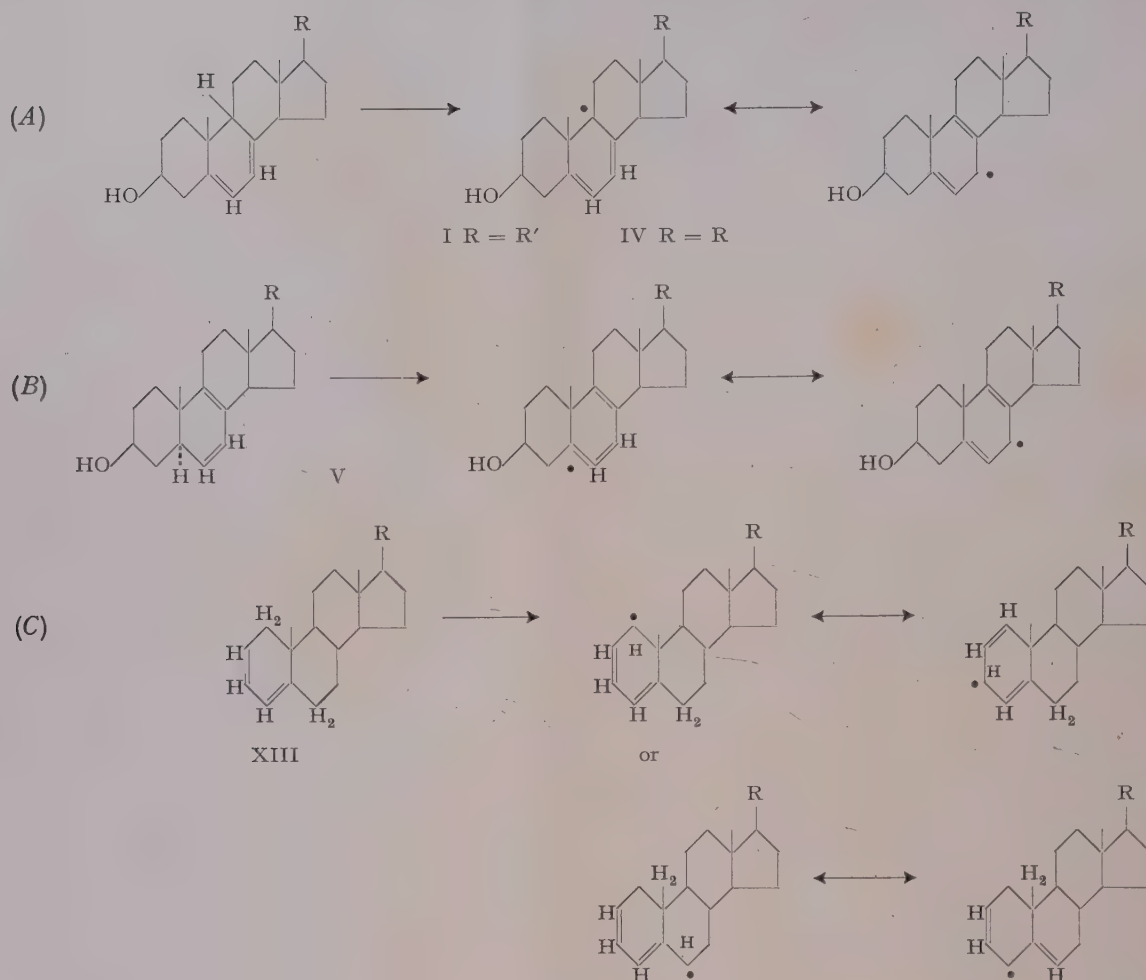
<sup>2</sup> YOSHIYUKI URISHIBARA and TOSHIO ANDO, Bull. Chem. Soc. Jap. 11, 802 (1936); 12, 495 (1937) in English. – TOSHIO ANDO, Bull. Chem. Soc. Jap. 14, 285 (1939); 14, 482 (1939).

<sup>3</sup> A. WINDAUS and G. ZUHLSDORF, Ann. Chem. 536, 204 (1938).

<sup>4</sup> AKIRA TOMINAGA, Bull. Chem. Soc. Jap. 14, 486 (1939).

<sup>1</sup> T. KENNEDY and F. S. SPRING, J. Chem. Soc. 250 (1939).

<sup>2</sup> ROBERT P. JACOBSEN and C. Z. NAWROCKI, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2612 (1940).



The exposure of the same diene to sunlight by USHAKOV and KOSHELEVA<sup>1</sup> led to the formation of a dimer isomeric with JACOBSEN'S. The Russian investigators also condensed  $\Delta^{3,5}$ -cholestadiene (XIV) and obtained the same dimer as from the 2,4 diene.

The work of JACOBSEN and USHAKOV has been repeated and confirmed by the author.

No proposed mechanisms for any of these photocondensations have appeared. The mechanism suggested below accounts for all known dimerizations, including the formation of the same dimer from three steroids (IV, V and VI), and the isolation of two dimers from the same steroid (XIII).

Since all the reactions under discussion proceed under the influence of light (and with the loss of an atom of hydrogen), the assumption is made that a free radical mechanism is operative, with the ejection of the atom of hydrogen—from a carbon in or near the activating diene system—producing the radical.

In ergosterol (I) and 7-dehydrocholesterol (IV) the hydrogen can be lost from the 6, 7 or 9 position. Of these possibilities, only loss of hydrogen from C-9 produces a radical capable of stabilization by resonance (Form. A).

This resonance permits the odd electron to be at C-9 or C-7. Since the 9 position is sterically hindered, coupling should proceed best at C-7. This gives a dimer with precisely the formula proposed by INHOFFEN (II).

$\Delta^{6,8}$ -cholestadienol (V) can lose hydrogen from the 5, 6 or 7 position, of which only loss from C-5 produces a resonating radical (Formulæ B).

Since the 5 position is sterically hindered, coupling should occur at the 7 position. Combination at C-7 will produce the same dimer from the 6,8 diene as from the 5,7 diene, which has been experimentally verified.

Inasmuch as this mechanism requires the elimination from  $\Delta^{6,8}$ -coprostadienol (VI) of the C-5 hydrogen, its configuration in the monomer does not affect the structure of the dimer. This accounts for the formation of the same bisteroid from this diene, too.

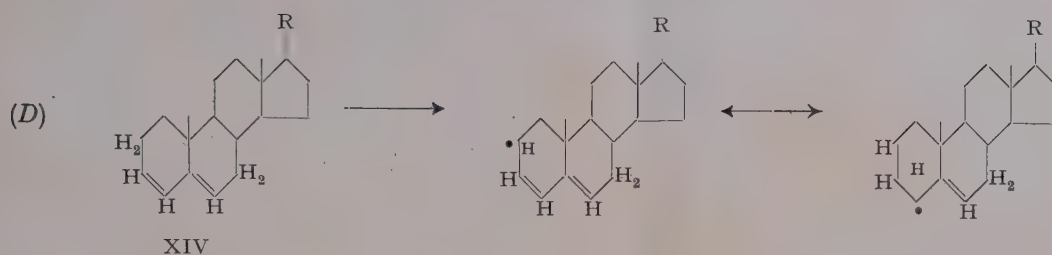
The application of this reasoning to the ergosterol isomers (VII, VIII, IX and XII) studied by KENNEDY and SPRING<sup>1</sup> calls for the removal of the hydrogen atom on C-9. A study of molecular models has shown the C-9 hydrogen to be hindered if the C-10 methyl is cis to it. The expected greater ease of eliminating an unblocked hydrogen atom explains the deduction<sup>1</sup> that ergosterol isomers form photodimers if the C-10 methyl and the C-9 hydrogen are trans.

The fact that two different dimers were obtained<sup>2</sup> from  $\Delta^{2,4}$ -cholestadiene (XIII) may be resolved by the following argument. This diene can lose a hydrogen atom from the 1, 2, 3, 4 or 6 position, of which only loss from the 1 or 6 position will produce resonance-stabilized radicals (Formulæ C).

<sup>1</sup> M. I. USHAKOV and N. F. KOSHELEVA, J. Gen. Chem. U.S.S.R. 11, 203 (1941).

<sup>1</sup> T. KENNEDY and F. S. SPRING, J. Chem. Soc. 250 (1939).

<sup>2</sup> M. I. USHAKOV and N. F. KOSHELEVA, loc. cit.



Of the four possible positions for coupling—1,3,4 and 6—none can be eliminated for steric reasons, but two of these—3 and 4—would be favored because they are once removed from two double bonds, whereas the other two possible positions are merely allylic to one double bond. The dimer from  $\Delta^{2,4}$ -cholestadiene could therefore be either a 3,3' or a 4,4' bisteroid.

Since two dimers have actually been found, there remains to be determined, if possible, which bisteroid was isolated by each of the investigators.

Applying the reasoning used previously to the condensation of  $\Delta^{3,5}$ -cholestadiene (XIV)<sup>1</sup>, it is apparent that this diene could couple best at the 4 position (Formulæ D).

Considering that the same dimer was obtained by USHAKOV and KOSHELEVA<sup>1</sup> from the 3,5 diene and the 2,4 diene, it follows that their dimer should be the 4,4' compound, while JACOBSEN and NAWROCKI's dimer<sup>2</sup> should be the 3,3' compound. This corresponds to the suggestions of these investigators made purely on intuitive reasoning.

JOSEPH L. OWADES<sup>3</sup>

Department of Chemistry, Polytechnic Institute of Brooklyn, January 6, 1950.

#### Acknowledgments

The author is indebted to Dr. A. E. SOBEL for his active interest and guidance, and to Drs. C. G. OVERBERGER, C. WALLING, and B. J. LUDWIG for their valuable suggestions.

#### Zusammenfassung

Es wird eine Anzahl verwandter Reaktionen der Steroide vergleichend betrachtet. Ein Reaktionsmechanismus wird vorgeschlagen, der sämtliche bekannte Vorgänge zu erklären vermag und der es ermöglicht, die Struktur der entstehenden Bisteroide vorherzusagen.

<sup>1</sup> M. I. USHAKOV and U. F. KOSHELEVA, loc. cit.

<sup>2</sup> ROBERT P. JACOBSEN and L. Z. NOVROCKI, loc. cit.

<sup>3</sup> Present address: Fleischmann Laboratories, Standard Brands, Inc., 810 Grand Concourse, New York 51, N.Y.

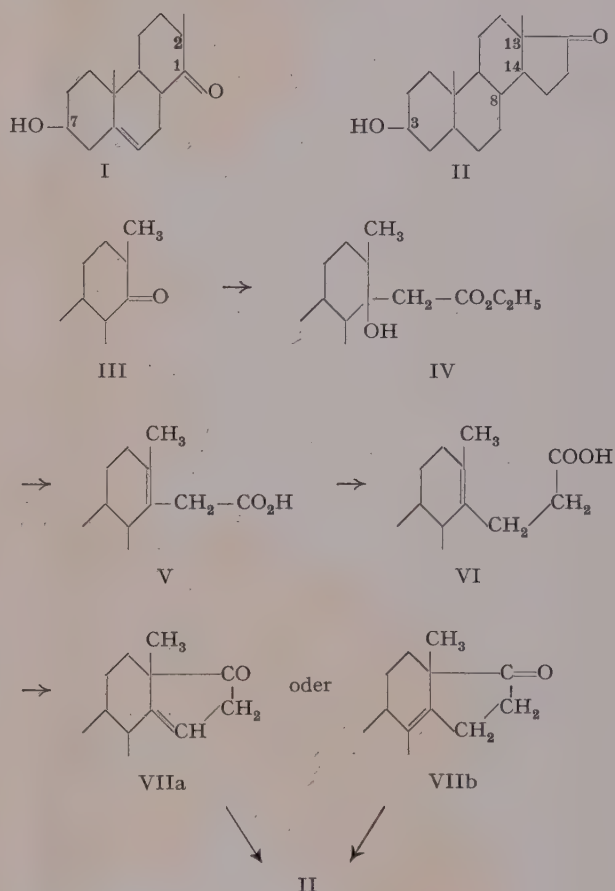
### Darstellung von 4-Ring-Ketonen aus dem triacyklischen Keton von Köster und Logemann<sup>1</sup>

Das triacyklische Keton I von KÖSTER und LOGEMANN<sup>2</sup> entsteht neben Dehydro-3 $\beta$ -androsteron in beachtlichen Mengen bei der Chromsäureoxydation von Chole-

<sup>1</sup> 96. Mitteilung der Reihe «Über Steroide» (95. Mitt. siehe Helv. chim. acta 33, 388 (1950).

<sup>2</sup> H. KÖSTER und W. LOGEMANN, Ber. Dtsch. chem. Ges. 73, 298 (1940).

sterin nach RUZICKA und WETTSTEIN<sup>1</sup>. An anderem Ort<sup>2</sup> berichteten wir ausführlich über eine Reihe seiner Abkömmlinge. Im Zuge der Verwertung der Nebenprodukte der Cholesterinoxidation versuchten wir unter anderem durch Anbau eines 5-Ringes an das triacyklische Keton in die Androsteronreihe (II) zu gelangen. Dies schien um so interessanter, als CORNFORTH und ROBINSON<sup>3</sup> kürzlich die Totalsynthese eines dem triacyklischen Keton nahestehenden Diketons beschrieben.



Für den Anbau des 5-Ringes empfahl sich eine Reaktionsfolge, wie sie durch die Teilformeln III bis VII gekennzeichnet wird. Ein solcher Weg ist in ähnlich gear teten Fällen schon öfters versucht worden<sup>4</sup>. In der

<sup>1</sup> L. RUZICKA und A. WETTSTEIN, Helv. chim. acta 18, 986 (1935).

<sup>2</sup> Siehe Note I, Kolonne links.

<sup>3</sup> J. W. CORNFORTH und R. ROBINSON, Nature 160, 737 (1947); J. Chem. Soc. London, 1855 (1949).

<sup>4</sup> J. W. COOK und C. A. LAWRENCE, J. Chem. Soc. London, 1637 (1935); 817 (1937). – C. K. CHUANG, Y. L. TIEN und C. M. MA, Ber. Dtsch. chem. Ges. 69, 1494 (1936). – C. D. NENITZESCU, E. CIORANESCU und V. PRZEMETZKY, ib. 73, 313 (1940).

Steroidreihe verliefen die Versuche unbefriedigend<sup>1</sup>. Dagegen konnte JOHNSON<sup>2</sup> unter Einschaltung einer STOBBE-Kondensation ausgehend von Tetrahydrophenanthrenketonen in einfacher Weise Säuren vom Typus VI herstellen und diese zu Ketonen zyklisieren. Auf diese Weise gelang ihm soeben eine neue und elegante Synthese des Equilenins.

Das 7-Acetat des trizyklischen Ketons I geht aber die Kondensation mit Bernsteinsäureester nach STOBBE nicht ein. Indessen läßt es sich mit Bromessigsäure-äthylester kondensieren. Das 7-Acetat des Oxyesters vom Typus IV schmilzt bei 118°. Nach der Wasserabspaltung erhielt man einen doppelt ungesättigten Ester. Die entsprechende freie 7-Oxy-Säure (V) schmilzt bei 176° und ihr Acetat bei 137°.

Aus diesem Acetat gewannen wir mit Oxalylchlorid das Säurechlorid vom Smp. 110° und weiterhin mit Diazomethan ein Diazoketon, das nach ARNDT-EISTERT zum Methylester einer Acetoxy-homosäure vom Typus VI umlagert wurde. Die freie Oxyssäure schmilzt bei 174–175°. Die Zyklisierung gelang besonders leicht durch kurzes Erwärmen des Acetats mit Spuren von Zinntetrachlorid in Acetanhydrid. Es entstand ein Gemisch zweier isomerer Acetoxyketone, das sich über die Semicarbazone mit Methanol trennen ließ. Das Keton A, das wir vorwiegend erhielten, schmilzt bei 158–159° ( $[\alpha]_D^{24} = -41^\circ$  in Alkohol) sein Semicarbazon bei 262°. Das Keton B schmilzt bei 118–120° ( $[\alpha]_D^{24} = +337^\circ$  in Alkohol) und sein Semicarbazon bei 230°.

Dem Keton A kommt vermutlich nicht Formel VIIa, sondern VIIb mit ditertiärer Doppelbindung zu. Sein Acetat nimmt in Gegenwart von Platin in Eisessig bei Zimmertemperatur leicht nur 2 Mol Wasserstoff auf, wobei die 5,6-Doppelbindung und die Ketogruppe hydriert werden. Annähernd ein drittes Mol lagerte langsam erst beim Erwärmen auf 70° an. Nun wurde mit Chromsäure oxydiert und das Acetat eines neuen, gesättigten Oxyketons isoliert. Es schmilzt bei 115° ( $[\alpha]_D^{28} = -107^\circ$  in Alkohol) und sein Semicarbazon bei 272–273°.

Falls die Kondensation von VI wirklich in dem angenommenen Sinne verlaufen ist, würde das Oxyketon ein Stereoisomeres des 3 $\beta$ -Androsterons (II) darstellen, mit unnatürlicher Konfiguration an den Asymmetriezentren C<sub>8</sub>, C<sub>13</sub> und/oder C<sub>14</sub>.

Zur Sicherstellung der Ergebnisse haben wir auch ähnliche Reaktionsfolgen ausgehend von in 5,6-Stellung hydrierten trizyklischen Ketonen durchgeführt. Hierüber werden wir später berichten.

J. R. BILLETER und K. MIESCHER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, den 10. März 1950.

### Summary

The acetate of the tricyclic ketone I of KÖSTER and LOGEMANN was transformed through the intermediates III to VI into the acetates A and B of tetracyclic ketones (probably formulæ VIIb and VIIa). By perhydration of A and subsequent oxidation resulted the acetate of a hydroxy ketone which may represent a stereoisomer of androsterone II.

<sup>1</sup> C. HABERLAND, Ber. Dtsch. chem. Ges. 72, 1215 (1939); 76, 621 (1943). – C. D. NENITZESCU und E. CIORANESCU, Ber. Dtsch. chem. Ges. 75, 1765 (1942).

<sup>2</sup> W. S. JOHNSON und J. W. PETERSEN, J. Amer. Chem. Soc. 67, 1366 (1945). – W. S. JOHNSON, V. L. STROMBERG und J. W. PETERSEN, ib. 71, 1384 (1949); W. S. JOHNSON und V. L. STROMBERG, ib. 72, 505 (1950); siehe auch B. RIEGEL, S. SIEGEL und D. KRITCHEWSKY, ib. 70, 2950 (1948).

## Isolierung des Neonisotops <sup>20</sup>Ne von 99,95% isotoper Reinheit im Trennrohr

Die Gewinnung größerer Mengen der beiden häufigeren Neonisotope gelang zuerst 1940 mit dem Trennrohr, wobei je 2,5 Liter <sup>20</sup>Ne von 99,8% und <sup>22</sup>Ne von 99,7% Reinheit abgeschieden wurden<sup>1</sup>. Später haben amerikanische Autoren diese Isotope ebenfalls nach dem Trennrohrverfahren gewonnen, ohne jedoch denselben Reinheitsgrad zu erreichen. WATSON, ONSAGER und ZUCKER<sup>2</sup> erhielten in einer bei 3 Atm. arbeitenden Anlage aus 150 Liter Rohneon 7 Liter eines Gases mit 93,4% <sup>22</sup>Ne und eine größere Menge <sup>20</sup>Ne mit einem Gehalt von 97 bis 98%. ELDER<sup>3</sup> kam in einem 6 m langen Trennrohr mit Hitzdraht mit 3 Liter Neon auf der leichten Seite bis 99,3% <sup>20</sup>Ne, während auf der schweren ein Gemisch von 56,4% <sup>20</sup>Ne, 0,8% <sup>21</sup>Ne und 42,8% <sup>22</sup>Ne anfiel.

Im Zusammenhang mit der Frage nach der Größe der Thermodiffusionskonstanten binärer Gemische unternahmen wir jetzt die Isolierung einer größeren Menge reinsten <sup>20</sup>Ne. Dazu diente eine kompensierte Trennanlage, die im wesentlichen aus 5 gläsernen Einheiten von je 285 cm effektiver Rohrlänge bei 12 mm Durchmesser bestand. Als Heizelemente wirkten 0,4 mm dicke Platiniridiumdrähte, die durch federnde Platindreiecke in der Rohrachse zentriert wurden. Die Heizung konnte dann mit Wechselstrom erfolgen, ohne daß die Drähte in unzulässige Schwingungen gerieten. Bei einer Leistungsaufnahme von 1,6 Kilowatt nahmen die Drähte eine Temperatur von 600° C an. Wöchentlich wurde durch Einschieben des Gases zwischen der Trenneinheit 2 und 3 etwa 1/2 Liter Neon verarbeitet, so daß neben hochprozentigem <sup>20</sup>Ne noch eine schwere Fraktion vom ungefähren durchschnittlichen Atomgewicht 21 entstand.

Die Trennung wurde durch Massenanalysen von Herrn Dr. Hintenberger im Theodor-Kocher-Institut in Bern festgestellt, wofür wir ihm auch hier herzlich danken. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

### Normales Neon<sup>4</sup>:

90,51 % <sup>20</sup> Ne	0,28 % <sup>21</sup> Ne	9,21 % <sup>22</sup> Ne
--------------------------	-------------------------	-------------------------

### Schwere Neonfraktion:

44,0 % <sup>20</sup> Ne	1,10 % <sup>21</sup> Ne	54,9 % <sup>22</sup> Ne
-------------------------	-------------------------	-------------------------

### Leichte Neonfraktion:

99,94 % <sup>20</sup> Ne	0,01 % <sup>21</sup> Ne	0,03 % <sup>22</sup> Ne
--------------------------	-------------------------	-------------------------

Diese Zahlen entsprechen einem totalen Trennfaktor der Apparatur von rund 2400. Ausgehend von 6,65 Liter «spektralreinem» Neon, das sich in den handelsüblichen Glaszylindern mit Zerschlageventil befand, gewannen wir für die geplanten Messungen 3 1/2 Liter <sup>20</sup>Ne von 99,95% Reinheit. Die schwere Fraktion enthielt 94% des im Ausgangsgas vorhandenen Isotops <sup>21</sup>Ne, dessen Konzentration dabei vervierfacht wurde. Sie ist in größeren Mengen ein geeignetes Ausgangsmaterial zur weiteren Anreicherung dieses seltenen Isotops neben der Gewinnung von hochkonzentriertem <sup>22</sup>Ne.

Wir möchten bemerken, daß unser <sup>20</sup>Ne heliumfrei ist, was für das Ausgangsgas keineswegs zutrifft. Hier bewährte sich das Trennrohr vorzüglich als analytisches Instrument. Denn es stellte sich bei Beginn der Trennung

<sup>1</sup> G. DICKEL und K. CLUSIUS, Z. phys. Chem. B 48, 50 (1940).

<sup>2</sup> W. WATSON, L. ONSAGER und A. ZUCKER, Rev. Scientific Instruments 20, 924 (1949).

<sup>3</sup> F. K. ELDER, Phys. Rev. 73, 1263 (1948).

<sup>4</sup> Normales Neon nach J. MATTAUCH und A. FLAMMERSFELD. Isotopenbericht 1949, S. 34, Tübingen.

rasch heraus, daß das «spektralreine» Handelsgas noch merkliche Mengen Helium und Stickstoff enthielt, die von der technischen Reinigung und Analyse nicht erfaßt worden waren. Diese Verunreinigungen machten sich durch die veränderte Wärmeleitung des Trenngases bemerkbar und wurden durch je ein Endtrennrohr von 150 cm Länge am schweren bzw. leichten Ende ausgeschieden. Den Heliumgehalt des Ausgangsgases konnten wir durch eine Dichtmessung des am leichten Ende angesammelten  $^{20}\text{Ne}$ -He-Gemisches mit der Gaswaage bei Berücksichtigung der Volumverhältnisse sehr genau zu 1,9% He ermitteln, während der  $\text{N}_2$ -Gehalt schätzungsweise etwas unter 0,5% lag.

Wir danken der Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich für einen Kredit zur Beschaffung des Neons.

KLAUS CLUSIUS und MAX HUBER

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Zürich, den 25. April 1950.

### Summary

From 6,65 litres of ordinary neon 3,5 litres helium-free  $^{20}\text{Ne}$  with an isotopic purity of 99,95% were obtained in a thermal diffusion column of 5 units of 2,85 m length each. The so-called "spectroscopically" pure neon of trade quality delivered in glass tubes contained 1,9% helium and about 0,5% nitrogen which could be easily detected and separated from the crude neon during the process.

## Bestimmung der magnetischen Suszeptibilität von Vitamin $\text{B}_{12}$

Vitamin  $\text{B}_{12}$  ist seit einiger Zeit in kristallisierter Form<sup>1</sup> zugänglich; über seine chemische Struktur ist aber bis heute erst wenig bekanntgeworden. Man kennt lediglich die ungefähre Bruttoformel der Verbindung ( $\text{C}_{62}\text{H}_{88}\text{N}_{14}\text{O}_{13}\text{P Co}$  oder  $\text{C}_{63}\text{H}_{90}\text{N}_{14}\text{O}_{13}\text{P Co}$ ) sowie die Struktur kleiner Bruchstücke des  $\text{B}_{12}$ -Moleküls. – Auf Veranlassung von Herrn Prof. T. REICHSTEIN haben wir versucht, durch magnetische Messungen – unter Ausnutzung des Umstandes, daß Vitamin  $\text{B}_{12}$  eine Kobaltverbindung ist – etwas weiteres über seine Struktur in Erfahrung zu bringen, ähnlich wie dies in anderen Fällen durch die magnetische Untersuchung entsprechender Metallsalze, insbesondere bei Porphyrinen und Phthalocyaninen möglich gewesen ist<sup>2</sup>. Die Grundlage der Methode<sup>3</sup> bildet die Tatsache, daß das magnetische Moment gewisser Ionen (der sogenannten Übergangselemente) meist in charakteristischer Weise davon abhängt, ob das betreffende Ion in der zu untersuchenden Substanz elektrostatisch gebunden enthalten ist, oder ob, und vor allem wie es durch homöopolare Bindungen in ein größeres Molekül, in den erwähnten Fällen in ein Porphyrin- bzw. Phthalocyaninmolekül eingebaut ist. Es lag nahe, in dieser Weise gerade Vitamin  $\text{B}_{12}$  zu untersuchen, da dessen Molekül bereits ein in diesem Sinne als Indikator des Bindungszustandes geeignetes Metallatom enthält.

<sup>1</sup> E. L. RICKES, N. G. BRINK, F. R. KONIUSZY, T. R. WOOD, and K. FOLKERS, *Science* 107, 396 (1948). – E. LESTER SMITH, *Nature* 161, 638 (1948).

<sup>2</sup> Zahlreiche Arbeiten von L. PAULING und Mitarbeitern, zitiert z. B. in 3. – W. KLEMM und L. KLEMM, *J. prakt. Chemie* 143, 82 (1935).

<sup>3</sup> Siehe z. B. P. W. SELWOOD, *Magnetochemistry* (New York 1943).

Die hierzu nötigen Suszeptibilitätsmessungen führten wir nach einer Art «Steighöhenmethode»<sup>1</sup> an Lösungen von  $\text{B}_{12}$  in einem «unmagnetischen»<sup>2</sup> Lösungsmittel durch; es war derart möglich, mit kleinen Substanzmengen (10–20 mg) auszukommen. Die verwendete Methode geht davon aus, daß die Suszeptibilität einer solchen Lösung (wegen der Temperaturabhängigkeit der Suszeptibilität des paramagnetischen Lösungsbestandteils) bei einer bestimmten Temperatur genau gleich Null wird, und daß dementsprechend bei dieser Temperatur die von einem inhomogenen Magnetfeld auf die Lösung ausgeübte Kraft verschwindet<sup>3</sup>. Man kann diese Temperatur als «Schwebetemperatur» (S.-T.) bezeichnen, weil die in ihrem «Steigrohr» an sich bewegliche Lösung dann auch beim Einschalten des Magnetfeldes in Ruhe bleibt<sup>4</sup>, während sie bei allen anderen Temperaturen dabei entweder steigt oder fällt.

Da die S.-T. ihrerseits durch die Zusammensetzung der Lösung und durch die Suszeptibilitäten der einzelnen Lösungsbestandteile eindeutig bestimmt ist, kann man bei Lösungen bekannter Zusammensetzung aus Schwebetemperaturen auf Suszeptibilitäten schließen.

Unsere Versuche ergaben:

Eichung: Ein Zusatz von 1 bzw. 1,5% Wasser zu einer Lösung mit einer S.-T. von 18,6° erniedrigte die S.-T. dieser Lösung auf 15,6° bzw. 13,9°; daraus folgt, daß im Mittel eine S.-T.-Erniedrigung von 1° einer Suszeptibilitätserniedrigung der Lösung um  $2,4 \cdot 10^{-9}$  entspricht<sup>5</sup>.

Eigentliche Messung: Ein Zusatz von 1,8; 1,1; 1,0; 0,9% Vitamin  $\text{B}_{12}$  zu der gleichen Lösung ergab eine Erniedrigung der S.-T. um 4,8; 2,3; 2,4; 2,2°; daraus folgt für Vitamin  $\text{B}_{12}$  unter Verwendung des angegebenen Eichwertes eine Grammsuszeptibilität von  $(-0,58 \pm 0,08) \cdot 10^{-6}$  bzw. eine Molsuszeptibilität von  $(-750 \pm 100) \cdot 10^{-6}$ .

Das für diese Versuche benutzte kristallisierte Vitamin  $\text{B}_{12}$  wurde von Herrn Dr. O. SCHINDLER an der Pharmazeutischen Anstalt Basel teilweise aus Leberextrakt<sup>7</sup>, teilweise aus Nebenprodukten der Streptomycinfabrikation<sup>8</sup> isoliert. Die Präparate waren nach Spektrum und biologischer Prüfung identisch.

An dem für die Suszeptibilität gefundenen Wert erscheint zunächst bemerkenswert, daß die kobalthaltige Substanz Vitamin  $\text{B}_{12}$  diamagnetisch ist. Dadurch unterscheidet sich diese Verbindung deutlich von den gewöhnlichen Salzen des zwei- oder des dreiwertigen Kobalts sowie von den Komplexsalzen des zweiwertigen

<sup>1</sup> G. QUINCKE, *Ann. Phys.* 24, 347 (1885).

<sup>2</sup> Im konkreten Falle wurde eine ca. 2%ige Lösung von Kobaltsulfat in Wasser verwendet, nachdem festgestellt war, daß sich in einer solchen Lösung Vitamin  $\text{B}_{12}$  unverändert löst.

<sup>3</sup> Genauer gesagt ist die Suszeptibilität dann gleich der des über der Lösung befindlichen Gases. Die Methode wurde ursprünglich gerade zur Messung der Suszeptibilität von Gasen entwickelt; s. A. P. WILLS und L. G. HECTOR, *Phys. Rev.* 23, 209 (1924).

<sup>4</sup> Wird das QUINCKESCHE Verfahren in dieser Form – als Nullmethode – zur Messung benützt, so spielen die sonst so störenden «Benetzungsschwierigkeiten» keine Rolle.

<sup>5</sup> Da in unseren Versuchen der Flüssigkeitsmeniskus an Luft grenzt, müssen wir für die Suszeptibilität des Wassers einen Wert von  $-0,75 \cdot 10^{-6}$  einsetzen. Von den durch die Zusätze verursachten Volumenänderungen der Lösung, ebenso von der Temperaturabhängigkeit der Suszeptibilität des Wassers, sehen wir ab.

<sup>6</sup> Der gefundene Wert besitzt demnach noch sehr weite Fehlergrenzen. Die Meßmethode – es ist uns nicht bekannt, ob sie bereits anderweitig beschrieben wurde – muß im einzelnen noch ausgearbeitet und verbessert werden. Im speziellen sollte man die Lösung nicht an Luft von veränderlichem Druck grenzen lassen.

<sup>7</sup> Von der N. V. Organon, Oss (Holland) freundlichst zur Verfügung gestellt.

<sup>8</sup> Ein Konzentrat aus Streptomycinabfällen wurde dafür von der Firma Armour Laboratories, Chicago, zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

Kobalts<sup>1</sup>. Diamagnetisch wie Vitamin B<sub>12</sub> sind dagegen, mit Ausnahme von K<sub>3</sub>CoF<sub>6</sub>, die vielen Komplexsalze des dreiwertigen Kobalts (insonderheit die Kobaltake<sup>2</sup>). Ebenfalls sind diamagnetisch hier nicht zu betrachtende mehrkernige Kobaltkomplexe sowie vereinzelte Nitroso- bzw. Kohlenoxyd-Verbindungen des Kobalts.

Theoretisch läßt sich andererseits voraussagen<sup>3</sup>, daß in Verbindungen des dreiwertigen Kobalts mit 6 oktaedrisch angeordneten und kovalent gebundenen Liganden (in «Durchdringungskomplexen») das Kobaltion die Magnetonezahl Null besitzen muß und diese Verbindungen infolgedessen (in Übereinstimmung mit der Erfahrung) diamagnetisch sein müssen. Dagegen sind für in anderer Weise gebundene dreiwertige oder zweiwertige Kobaltionen (wieder in Übereinstimmung mit der Erfahrung) Magnetonezahlen von 1,73, 2,83, unter Umständen auch höhere zu erwarten.

Auf Grund der erwähnten experimentellen Erfahrungen an anderen Kobaltverbindungen sowie auf Grund der Aussagen der Theorie dürfen wir somit allein schon aus der Tatsache, daß Vitamin B<sub>12</sub> diamagnetisch ist, den Schluß ziehen, daß das Kobaltion im B<sub>12</sub>-Molekül dreiwertig ist, daß es 6 oktaedrisch angeordnete Liganden besitzt und daß es in einem Durchdringungskomplex fest gebunden ist<sup>4</sup>. (Letztere Feststellung wird durch die bisherigen chemischen Befunde völlig bestätigt.)

Der für die Molsuszeptibilität gefundene Zahlenwert von  $(-750 \pm 100) \cdot 10^{-6}$  gibt – da das Kobaltion mit der Magnetonezahl Null keinen nennenswerten Beitrag dazu liefert – im wesentlichen die Suszeptibilität des organischen Teils des B<sub>12</sub>-Moleküls wieder. Theoretisch läßt sich auf Grund der Bruttoformel der Verbindung (durch Addition der Pascalschen Atominkremente) die Größenordnung dieses Wertes in befriedigender Übereinstimmung mit dem experimentellen Befund zu ca.  $-750 \cdot 10^{-6}$  angeben<sup>5</sup>. Eine genauere Diskussion dieser Zahlen, aus der man über das eingangs gegebene Programm hinausgehend, weitere Schlüsse auf die Konstitution der Verbindung ziehen könnte, ist vor allem schon wegen der großen Fehlergrenzen des experimentellen Werts vorderhand nicht möglich.

Wir danken Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Zurverfügungstellung der Substanzproben; Herrn Prof. Dr. W. KUHN danken wir für die Erlaubnis zur Benützung der Institutsmittel.

F. GRÜN und R. MENASSÉ

Physikalisch-chemische Anstalt der Universität Basel,  
17. Mai 1950.

### Summary

The magnetic susceptibility of vitamin B<sub>12</sub> has been measured, and the substance is found to be diamagnetic. This fact has been used to draw some conclusions about its structure.

<sup>1</sup> Siehe P.W. SELWOOD, l. c. – Eine (theoretisch bis jetzt nicht verständliche) Ausnahme bildet K<sub>4</sub>Co(CN)<sub>6</sub>, das (vgl. D.M. BOSE Z. Phys. 65, 677 [1930], sowie L. SZEGÖ und P. OSTINELLI, Gazz. 60, 946 (1930) diamagnetisch ist.

<sup>2</sup> Siehe insbesondere R.W. ASMUSSEN, Diss. Kopenhagen (1944).

<sup>3</sup> Siehe insbesondere L. PAULING, zitiert z. B. bei W. KLEMM, *Magnetochemie* (Leipzig 1936), p. 190.

<sup>4</sup> Diese Aussage bezieht sich natürlich zunächst auf Vitamin B<sub>12</sub> in Lösung.

<sup>5</sup> Für die Berechnung eines genaueren Wertes müßte man noch die vorderhand unbekannten Konstitutionsinkremente sowie den Suszeptibilitätsbeitrag des Kobaltions berücksichtigen. Der oben angegebene Wert könnte sich dadurch u. U. auf ca.  $-650 \cdot 10^{-6}$  vergrößern (vor allem, wenn das B<sub>12</sub>-Molekül stark ungesättigt sein sollte) oder auf ca.  $-800 \cdot 10^{-6}$  verkleinern (wenn es aromatische Ringe enthält).

## Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf Atmung und Ionenaufnahme von Weizenwurzeln

Die Untersuchungen von LUNDEGÅRDH über die Atmung von Weizenwurzeln und deren Zusammenhang mit der Ionenaufnahme machten es wahrscheinlich, daß es sich bei dem für die Ionenaufnahme verantwortlichen Anteil der Wurzelatmung (Anionenatmung) um ein Oxydationssystem vom Typus der Zytochrom/Zytochrom-Oxydase handeln muß<sup>1</sup>. Die eisenhaltigen Oxydationsfermente werden durch HCN, NaN<sub>3</sub> und CO gehemmt, wobei die CO-Hemmung photoreversibel ist. Die kupferhaltigen Phenoloxidasen reagieren auch auf die genannten Atmungsgifte, jedoch ist die CO-Hemmung nicht lichtempfindlich. Die Blockierung der Anionenatmung und Ionenaufnahme durch Cyanid und Azid wurde vielfach untersucht<sup>2</sup>, hingegen liegen über die entsprechende Wirkung von CO bis jetzt noch keine Untersuchungen vor. Die hier angeführten Versuche sollen dazu beitragen, die Natur der Anionenatmung zu klären.

Die Versuche wurden entsprechend der von LUNDEGÅRDH angegebenen Methode ausgeführt<sup>3</sup>. Es wurden die abgetrennten, 6–8 cm langen Wurzeln von ca. 10 Tage alten, in Nährlösung aufgezogenen Weizenpflanzen verwendet. In der Regel betrug das Trockengewicht 10–15 mg pro Versuchskolben von 50 ml Inhalt. Für die CO-Versuche wurde eine mit CO gesättigte Lösung im gewünschten Verhältnis mit O<sub>2</sub> gesättigter Lösung gemischt und in den Kontrollversuchen die CO-Lösung durch N<sub>2</sub> gesättigte ersetzt. Um eine ständige Durchmischung der Lösung während der Versuche zu gewährleisten und eine Temperaturerhöhung durch die Belichtung zu verhindern, ließen wir die Kolben in einem temperaturkonstanten Wasserbad (20° C) unter einem Winkel von 45° rotieren. Als Lichtquelle wurde eine 1000-Watt-Lampe benutzt, die Lichtstärke betrug in der Höhe der Versuchskolben ca. 14000 Lux. Versuche zeigten, daß mindestens 4000 Lux notwendig sind, um die CO-Wirkung aufzuheben. Die Atmung wurde durch Bestimmung des O<sub>2</sub>-Verbrauches aus der Lösung nach der Methode von WINKLER bestimmt, die Cl-Aufnahme durch elektrometrische Titration der Versuchslösung.

Es wurde jeweils in Parallelversuchen die normale Atmung und Cl-Aufnahme in 0,0005 mol KCl-Lösung, die Grundatmung in derselben Salzlösung mit Zusatz von 0,001 mol KCN und die Wirkung von CO in belichteten und verdunkelten Versuchen, ebenfalls in 0,0005 mol KCl-Lösung, bestimmt. Bei der verwendeten KCN-Konzentration wird sicher die gesamte Anionenatmung gehemmt, so daß sich aus der Differenz der Totalatmung (reines KCl) und der Grundatmung (0,001 mol KCN) die Anionenatmung ergibt. Vorversuche zeigten auch, daß das Licht Atmung und Ionenaufnahme weder in reiner KCl-Lösung noch in KCN beeinflusst.

In der Tabelle sind die Versuchsergebnisse über die CO-Wirkung bei variierendem CO-Gehalt der Lösung zusammengestellt. Obwohl das CO in Wasser sehr schwer löslich ist und die Konzentration nicht über 0,95 mmol/l betrug, wurde die Atmung bei den höheren CO-Konzentrationen im Dunkeln eindeutig gehemmt, während sie im Licht ungefähr denselben Wert erreichte wie die Kontrolle ohne CO. Da die Atmungswerte oft stark

<sup>1</sup> H. LUNDEGÅRDH, Ark. Bot. K. Svenska Vet. Akad. 32 A, No. 12 (1945).

<sup>2</sup> L. MACHLIS, Amer. J. Bot. 31, 183 (1944). – H. LUNDEGÅRDH, Ann. Agric. Coll. Sweden 16, 339 (1949).

<sup>3</sup> H. LUNDEGÅRDH, Ann. Agric. Coll. Sweden 16, 372 (1949).

streuen, läßt sich an dem bis jetzt vorhandenen Versuchsmaterial nicht entscheiden, ob die unvollständige Lichtreversibilität bei den höchsten CO-Konzentrationen zufallsbedingt ist oder auf der Anwesenheit eines durch CO hemmbaren, aber nicht lichtempfindlichen Oxydationssystems, z. B. Phenoloxydase, beruht. Ferner geht aus der Tabelle hervor, daß mit sinkendem CO-Gehalt die Hemmwirkung abnimmt, bei 0,5 mmol/l ist keine Wirkung mehr nachweisbar.

Photoreversible Hemmung von Atmung und Ionenaufnahme bei variierendem CO-Gehalt der Versuchslösung. Die Werte sind in  $\mu\text{mol/Stunde}/10\text{ mg Trockengewicht}$  angegeben.

	Salz allein	Salz + CO hell	Salz + CO dunkel	Salz + 0,001 mol KCN
A. CO 0,93 mmol/l				
O <sub>2</sub>	0,19 mmol/l			
O <sub>2</sub> -Verbrauch	1,55	1,35	0,76	0,71
Cl-Aufnahme	0,23	0,24	0,10	—
Anionenatmung	0,84	0,64	0,05	
B. CO 0,87 mmol/l				
O <sub>2</sub>	0,25 mmol/l			
O <sub>2</sub> -Verbrauch	1,77	1,64	1,10	0,80
Cl-Aufnahme	0,52	0,35	0,10	—
Anionenatmung	0,97	0,84	0,30	
C. CO 0,52 mmol/l				
O <sub>2</sub>	0,20 mmol/l			
O <sub>2</sub> -Verbrauch	2,11	1,56	1,65	0,71
Cl-Aufnahme	0,51	0,45	0,32	—
Anionenatmung	1,40	0,85	0,94	

Die Hemmung der Cl-Aufnahme geht mit der Atmungshemmung parallel. Ebenso wie die Anionenatmung nicht vollständig aufgehoben wird, findet auch bei den höchsten CO-Gehalten noch eine geringe Ionenaufnahme statt, die mit steigender Anionenatmung ebenfalls zunimmt. Die Versuche stellen also einen weiteren Hinweis auf die Koppelung von Atmung und Ionenaufnahme dar und vervollständigen den Beweis für die Auffassung, daß es sich bei der Anionenatmung um ein eisenhaltiges Oxydationssystem handeln muß.

ERIKA SUTTER

Pflanzenphysiologisches Institut der Königl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Uppsala, den 8. März 1950.

#### Summary

The effect of carbon monoxide upon oxygen consumption and ion absorption in wheat roots has been studied. In the dark, inhibition of respiration by CO (in sufficiently high concentrations) is nearly as great as the maximum inhibition in cyanide. Similarly, the chloride absorption is strongly inhibited. Inhibition of respiration and ion absorption by CO is light-reversible.

#### Direkte Messung der großen Periode des Wachstums an aufeinanderfolgenden Zellen im Wurzelvegetationspunkt

Daß die Wurzel nur in einer wenige Millimeter großen Zone hinter der äußersten Spitze wächst, wurde bereits um die Mitte des 18. Jahrhunderts gefunden. Ein gutes Jahrhundert später ergab die genauere Untersuchung

dieser Zone durch FRANK<sup>1</sup>, HOFMEISTER<sup>2</sup>, MÜLLER<sup>3</sup> und CIESIELSKI<sup>4</sup>, daß die Wachstumsintensität in den einzelnen aufeinanderfolgenden Teilen dieser Zone sehr verschieden ist, und zwar in gesetzmäßiger Weise: Von der Spitze ab nach rückwärts nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit der Teilzonen zuerst zu, erreicht ein Maximum und sinkt dann auf 0. Anschließend an diese Autoren hat SACHS<sup>5</sup> einige Jahre später die Ergebnisse bestätigt und für den Zuwachs der einzelnen Zonen den Fachausdruck Partialzuwachs, für die erwähnte gesetzmäßige Verschiedenheit des Zuwachses der einzelnen Zonen den Begriff der großen Periode des Wachstums eingeführt. Er benutzte dieselbe Methodik wie FRANK, HOFMEISTER usw.: äußere Markierung der Wurzel mit feinen Strichen. SACHS wies ferner nach, daß die direkt hinter dem Vegetationspunkt gelegene Zone von 0,5–1 mm Länge innerhalb von 6–8 Tagen selbst eine derartige große Periode durchläuft.

Man hat nie den Versuch gemacht, an den einzelnen Zellen der in Betracht kommenden Zone selbst die große Periode nachzuweisen. In neueren Lehrbüchern<sup>6</sup> findet man lediglich den Hinweis, daß dieselbe natürlich auf eine solche der einzelnen Zellen zurückzuführen sei. Die von den oben genannten Autoren und SACHS angewandte Meßmethode ist so einfach, daß sich der Versuch auch als Schulversuch seit langem eingebürgert hat. Voraussetzung ist nur, daß möglichst dicke, zu einer Markierung geeignete Wurzeln benutzt werden. Sehr dünne Wurzeln, welche für Markierungen unbrauchbar sind, lassen es dagegen möglich erscheinen, anstatt an künstlichen Zonen die hintereinanderliegenden Zellen selbst zu messen. Daß man an dünnen, lebenden Wurzeln die Teilungs- und Wachstumszone gut feststellen und die einzelnen Zellen beobachten kann, wurde an anderer Stelle<sup>7</sup> für *Crepis capillaris* gezeigt. SINNOTT und BLOCH<sup>8</sup> hatten bereits vor einer Reihe von Jahren derartige Beobachtungen an den Wurzelvegetationspunkten verschiedener Arten von *Gramineen* gemacht. Sie benutzten ihre Befunde dazu, um nachzuweisen, daß die relative Lage der sich streckenden Zellwände im wesentlichen unverändert bleibt, also entgegen früheren Vorstellungen kein gleitendes Wachstum stattfindet. Messungen mit dem Ziel, die große Periode des Wachstums der Streckungszone bzw. der einzelnen Zellen zu ermitteln, wurden von SINNOTT und BLOCH nicht vorgenommen.

Noch geeigneter als *Crepis capillaris* zur Beobachtung der einzelnen Zellen in dem Vegetationspunkt intakter Wurzeln erwiesen sich in meinen Untersuchungen *Crepis setosa* und vor allen Dingen *Melandrium album*. Benutzt werden tadellos gerade auf Filtrierpapier herangezogene Keimlingswurzeln von 1–2 cm Länge. Die Keimlinge setzt man während der Aufzucht etwa alle 12 Stunden auf dem Filtrierpapier um, da infolge der sehr langen Wurzelhaare sonst eine zu feste Verwachsung mit dem Papier eintritt. Vor Beginn der Messung kommen die ausgelesenen Keimpflanzen auf gut angefeuchtete, tadellos saubere Objektträger ohne Filtrier-

<sup>1</sup> A. B. FRANK, *Beiträge zur Pflanzenphysiologie*, Engelmann, S. 35 (Leipzig 1868).

<sup>2</sup> W. HOFMEISTER, *Bot. Z.* 27, 33 (1869).

<sup>3</sup> N. S. C. MÜLLER, *Bot. Z.* 27, 387 (1869); 29, 727 (1871).

<sup>4</sup> TH. CIESIELSKI, *Untersuchung über die Abwärtskrümmung der Wurzel* (Dissertation, Breslau 1871).

<sup>5</sup> J. SACHS, *Arbeiten des Botanischen Instituts Würzburg*, Bd. I, S. 385 (1873).

<sup>6</sup> H. FITTING, W. SCHUMACHER, R. HARDER und F. FIRBAS, *Lehrbuch der Botanik* (23. und 24. Auflage, Gustav Fischer, Jena 1947).

<sup>7</sup> E. HEITZ, *Elemente der Botanik* (Springer-Verlag, Wien 1950).

<sup>8</sup> E. W. SINNOTT and R. BLOCH, *Amer. J. Botany* 26, 625 (1939).

Tabelle

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Wurzel A	3,4	5,5	4,5	8,2	12	17	22	30	28	13	3,6	0
Wurzel B	2,0	1,5	4,5	7,0	10	16	22	23	23	11	3,5	–
Wurzel C	1,3	1,5	3	5,5	6,8	14	20	22	10	10	–	–
Wurzel D	0	1,6	1,5	3,5	6,8	10	18	13	7	8	7,1	0
Durchschnitt	1,7	2,5	3,4	6,0	8,9	14,2	20,5	22	17	10,5	4,7	0

Zuwachs in  $\mu$  von 10–12 einzelnen aufeinanderfolgenden Zellen aus je 1 Zellreihe von 4 Wurzeln vom Beginn der Wachstumszone (Zelle I) bis zum Ende derselben (Zelle XI, XII) in  $1\frac{1}{2}$  Stunden. *Melandrium album*.

papierbelag. Auf diesen Objektträgern, welche in eine mit dem Deckel zu schließende Färbeküvette eingestellt werden, wachsen die Wurzeln ausgezeichnet. Die Färbeküvette selbst kommt unter eine mit Filtrierpapier feucht gehaltene Glasglocke.

Zu Messungen im Vegetationspunkt eignen sich am besten die Zellreihen der ersten subepidermalen Schicht. Diese Zellen können über 0,3 mm lang werden. Man benutzt nur solche Reihen, in denen die Größenzunahme von Zelle zu Zelle keine Unregelmäßigkeit zeigt. Der der Küvette entnommene Objektträger wird mit einem Zerstäuber kräftig benetzt. Zur Beobachtung benutzt man ein mittelstarkes Trockensystem mit genügend großem Objektabstand, damit kein Deckglas aufgelegt zu werden braucht. Für die Messung von 10–12 in einer Zellreihe hintereinander liegenden Zellen sind höchstens 7, bei einiger Übung 4–5 Minuten nötig. Gemessen wird alle halbe Stunden. Vor dem Einstellen in die Küvette

wird die Wurzel wieder kräftig besprüht. Die Pause von einer halben Stunde zwischen den unerschwelligen geotropischen Reizungen der Wurzel während der Horizontallage für die Messung sind groß genug, um eine Summierung zu verhindern. Die Wurzeln bleiben gerade.

Schon nach 4–5 Messungen, also nach  $1\frac{1}{2}$ –2 Stunden, ergibt sich bei einer Temperatur von  $20$ – $21^\circ$  eine sehr regelmäßige ausgesprochen große Periode des Wachstums, zusammengesetzt aus dem Zuwachs der 10–12 hintereinander liegenden *einzelnen Zellen* der Zellreihe (Tabelle).

Von Zelle zu Zelle steigt hinter dem Ende der Teilungszone die Wachstumsintensität allmählich an, erreicht in der VII.–VIII. Zelle ein Maximum und fällt darauf ziemlich rasch wieder ab.

Werden die Messungen in einer Zellreihe 5–6 Stunden lang fortgesetzt (Abb. 1), so sieht man die jüngsten

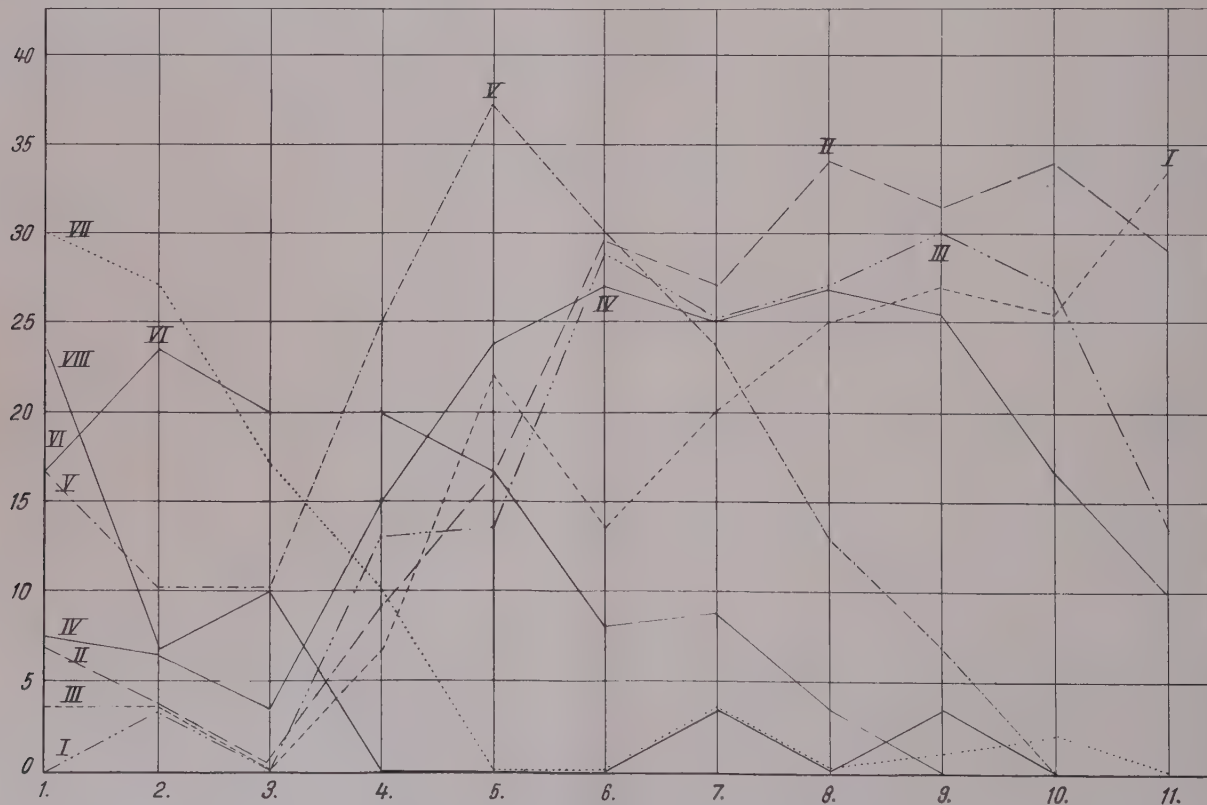


Abb. 1. Zuwachskurven von 8, in einer Reihe aufeinanderfolgenden Zellen der Wachstumszone einer Keimlingswurzel von *Melandrium album*. Messung alle 30–40 Minuten (Abszisse) während  $7\frac{1}{2}$  Stunden. Zuwachs in  $\mu$  (Ordinate).

Zellen nacheinander ihrem Alter entsprechend in das Stadium des maximalen Zuwachses treten, zuletzt die jüngste (I), etwas früher III und II (diese beiden in der wiedergegebenen Messung mit nicht genauer, dem Alter entsprechenden Reihenfolge II–III), noch früher IV und V und schon bald nach Meßbeginn VI. Die Wachstumsintensität der ältesten Zellen (VII und VIII) derselben Zellreihe ist dagegen von Beginn der Messung an bereits in Abnahme begriffen.

Vergleicht man den maximalen Zuwachs einer Zelle mit demjenigen eines Wurzelhaares derselben Wurzel, so ergibt sich, daß die Wurzelhaare beträchtlich schneller wachsen.

E. HEITZ

Ausgeführt mit Unterstützung der Freien akademischen Stiftung in Basel.

Botanisches Institut der Universität Basel, den 30. März 1950.

#### Summary

It is shown that by direct measuring of the subsequent cells in the growth-zone of the living root-tip of *Melandrium album* the great period of growth of each single cell in a cell-row can be observed. The maximum of the growth during 1–2 hours in a cell-row is restricted to one or two cells only. The duration of a one-cell period lasts about 6 hours.

The intensity of growth of a root-hair is greater than the maximum growth of a root-cell in the growing zone.

### X-Ray Diffraction and X-Ray Absorption Studies of Immobilized Bones

Observations of MEYER, WOLFF and ROUX<sup>1</sup> revealed a correlation between the gross architecture of bones (structure of 1<sup>st</sup> order) and the mechanical forces acting on them. Changes in the direction of external forces are followed by changes in thickness of the compacta of the bone and by rearrangements of the trabecular net work. A correlation also exists between the amount of osseous tissue formed and the magnitude of mechanical forces. The resorption of a bone that is no longer subjected to a mechanical stimulus is an indication of this relationship. The resorption is more pronounced in the metaphysis, where the blood supply is greater<sup>2</sup>.

The *extrinsic* factors, therefore, seem to be important for the regulation of the quantity and spacial arrangement of the osseous substance. On the other hand, it is clearly shown that bones can grow also when no external mechanical forces are present. The shape of bones developed only under the influence of *intrinsic* factors is similar to the shape developed under normal physiological conditions<sup>3</sup>. MURRAY and SELBY<sup>4</sup>, who investigated bone formation in chorio-allantoic grafts of femora of 6–7 days chick embryos, express the view that after birth and in the growing and adult individual the extrinsic factors exert a greater influence than during the embryonic development (see also GLUCKSMANN<sup>5</sup>).

<sup>1</sup> H. v. MEYER, Arch. anat. Phys. und wiss. Med. 11, 615 (1867). – J. WOLFF, Virch. Arch. 50, 389 (1870); 22. Sitzgsber. Preuß. Akad. Wiss. Berlin; Sitzg. Physik. math. Kl. 24. April 1884. – W. ROUX, Gesammelte Abh. 1, 700–722 (Leipzig, W. Engelmann, 1895).

<sup>2</sup> M. S. SHERMAN, J. Bone a. Joint Surg. 30 A, 915 (1948).

<sup>3</sup> S. S. TOWER, J. Comp. Neurol. 67, 241 (1937). – W. D. ARMSTRONG, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 61, 358 (1946).

<sup>4</sup> P. D. F. MURRAY and D. SELBY, Roux' Arch. Entw. mech. d. Organ. 122, 629 (1930).

<sup>5</sup> A. GLUCKSMANN, Anat. Rec. 72, 97 (1938); J. Anat. 76, 231 (1942).

From the investigations quoted above it is clear that the external mechanical forces acting on a bone have an influence on the structure of the 1<sup>st</sup> order. Contradictory results, however, were obtained when applying the same principle to the arrangement of the Haversian systems (structure of 2<sup>nd</sup> order), to the bundles of collagen fibres embedded in the bone substance (structure of 3<sup>rd</sup> order) and to the ultrastructure (structure of 4<sup>th</sup> order). An effect of the external mechanical forces on the structures of 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> order was reported by several authors<sup>1</sup> while others found no effect<sup>2</sup>. Different opinions concerning the influence of external forces on the ultrastructure of bone have also been reported. HENNY and SPIEGEL-ADOLF<sup>3</sup> expressed the view that the function rather than the shape of the bone determines the orientation of its structure. LAMARQUE<sup>4</sup> reported that the ultrastructural orientation is independent of the mechanical forces acting on the bone. A similar result, although not conclusive, was reported by REED and REED<sup>5</sup>.

The present investigation, which is a part of an extensive study on the ultrastructure and the distribution of mineral salts of different bones, is an attempt to give a definite answer to the question: Do external mechanical forces influence the ultrastructure of bone and the distribution of mineral salts of the structures of 2<sup>nd</sup> order? The ultrastructure is studied by X-ray diffraction and the composition of the Haversian systems by quantitative microradiography as developed by ENGSTRÖM<sup>6</sup>.

*Material*<sup>7</sup>. Bones from two dogs were used for the experiments. In one 30 day old dog (A) the left anterior limb was firmly fixed to the body in a narrow cutaneous pocket, preventing any active movements of the leg. The whole leg could be considered practically inert. The dog was sacrificed six months after the operation and the bones of the inert and normal limbs were freed from soft tissues, weighed and measured (cf. Table I). The bones were fixed in alcohol. In the other dog (B) the nerves of the brachial plexus on the left side were severed, causing a complete paralysis of the corresponding limb. The muscles showed an extensive fatty degeneration at autopsy, which was performed 125 days after the operation. Lengths and weights of the bones are found in Table I.

From the middle of the diaphysis of humerus and radius on both sides of dog A longitudinal sections about 100  $\mu$  in thickness were prepared for diffraction analysis. Cross sections from the same areas were prepared for historadiography. From the fifth metacarpus on both sides of dog B longitudinal sections were prepared for X-ray diffraction analysis.

<sup>1</sup> W. GEBHARDT, Roux' Arch. Entw. mech. d. Organ. 11, 383 (1901); 12, 1, 167 (1901); 16, 370 (1903); 32, 727 (1911). – O. M. OLIVO, C. R. Ass. Anat., 32. Réunion, Marseille, 1937, p. 334.

<sup>2</sup> R. AMPRINO and A. BAIRATI, Chir. Org. Movim. 21, 6 (1936). – R. AMPRINO, Roux' Arch. Entw. mech. d. Organ. 138, 305 (1938). – R. AMPRINO and A. TRIVELLINI, Arch. Ital. Chir. 47, 200 (1937). – R. AMPRINO and G. GODINA, Anat. Anz. 95, 191 (1944). – P. SANTONÉ, Arch. Ital. Anat. Embriol. 42, 234 (1939).

<sup>3</sup> G. C. HENNY and M. SPIEGEL-ADOLF, Amer. J. Physiol. 144, 632 (1945).

<sup>4</sup> M. P. LAMARQUE, C. R. Acad. Sci., Paris 216, 804 (1943).

<sup>5</sup> C. I. REED and B. P. REED, Amer. J. Physiol. 138, 34 (1942–43).

<sup>6</sup> A. ENGSTRÖM, Acta radiol. 31, 503 (1949).

<sup>7</sup> The material was kindly forwarded to us by Dr. F. VIGLIANI, Torino, who is studying the structural changes in bones developing in immobilized limbs. We wish to express our sincere thanks to Dr. F. VIGLIANI.

Table I

Lengths and weights of normally functioning and mechanically inert bones.

	Dog A				Dog B			
	Inert limb		Control limb		Inert limb		Control limb	
	Length cm	Weight g	Length cm	Weight g	Length cm	Weight g	Length cm	Weight g
Humerus . . .	10.8	15.5	10.4	25.0	10.3	15.0	10.3	31.0
Radius . . . .	10.8	5.0	10.0	9.0	10.8	6.8	10.4	12.5
Ulna . . . . .	13.7	7.0	13.7	10.5	12.6	6.2	12.5	13.7

The present knowledge of the appositional growth rate and the rebuilding rate of long bones in the dog<sup>1</sup> indicates that the period of immobilization was long enough to ensure that all material in the compacta of the bones had been laid down during the period of immobilization.

*Method: Microradiography.* When recording the X-ray absorption pictures of the thin ground bone specimens the procedure schematically shown in Fig. 1 was used. The section, *D*, 50 to 100  $\mu$  in thickness, was pressed against the emulsion side, *E*, of a Lippmann film. On

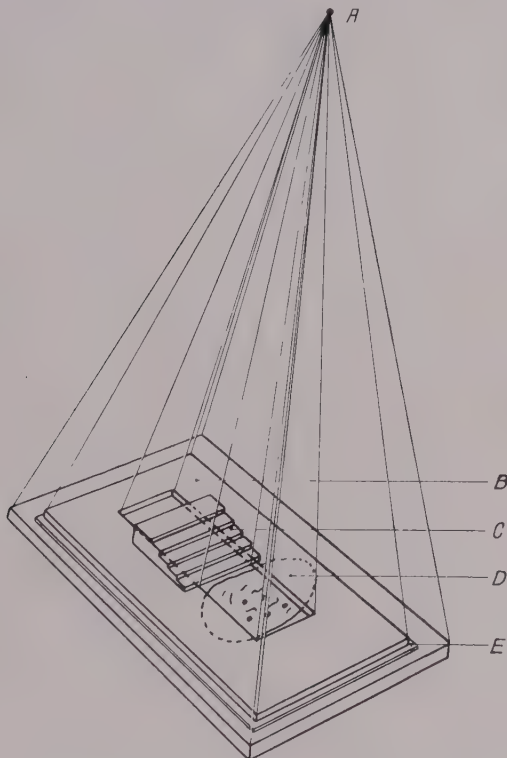


Fig. 1.

the upper surface of the metal holder, *B*, a step wedge made of collodion foils, *C*, was placed. Cf. ENGSTRÖM and LINDSTRÖM<sup>2</sup>. The distance from the photographic plate to the target of the X-ray tube, *A*, was about 5 cm, giving a geometrical unsharpness in a 50  $\mu$  thick sample of about 5  $\mu$ . The film emulsion had a resolving power of about 2  $\mu$ . The X-rays were generated at 5,000 volts

and 30 milliamps and filtered through 1 mm Be. The time of exposure varied with the thickness of the specimen but was about 1 hour. The X-rays used had an effective wavelength of about 2.5–3 Å, lying on the short wavelength side of the K-absorption edge for calcium and giving a maximal differential absorption. The comparison between the density of the microradiographic image of the sample and the step wedge gave the X-ray absorption in different points of the sample expressed in units of the step wedge.

The thickness of the specimen may vary in different parts. However, the thickness of a Haversian system and of the neighbouring old bone can be regarded as the same, since they were only 0.1 mm apart. To get comparable values, therefore, the density of each Haversian system was divided by the density of the neighbouring old bone. The density of the primary bone was relatively constant<sup>1</sup>. The quotient thus obtained has the numerical value of 1 if the content of absorbing substances is the same in the Haversian system as in the fragments of old bone. The younger the Haversian system, the lower the quotient. Generally values between 0.75 and 1 are obtained. When this quotient is measured for a great number of Haversian systems and the mean is calculated, this mean is an expression of the rate of new formation of osteons. Details will be published later<sup>1</sup>.

*Diffraction.* The microcamera described by CHESLEY<sup>2</sup> was used to record the diffractograms. The area used in the specimen was about 10  $\mu$  in diameter and was selected under the microscope. Cu K $\alpha$  radiation, filtered in Ni was used.

Table II

Ratio between the content of mineral salts in primary periosteal bone and in secondary bone (Haversian systems).

Radius Dog A		Humerus Dog A	
Inert limb	Control limb	Inert limb	Control limb
0.93 $\pm$ 0.01	0.93 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.008	0.93 $\pm$ 0.007

*Results.* Table II gives the values of the quotient in density between the Haversian systems and the neighbouring fragments of old bone. The values from bones in the normal and the immobilized side are identical, indicating that the rate of new formation of Haversian systems is the same in the two instances. This finding seems to be in agreement with the identical uptake of

<sup>1</sup> G. GODINA, Arch. Ital. Anat. Embriol. 52, 161 (1946).

<sup>2</sup> A. ENGSTRÖM and B. LINDSTRÖM, Biochim. et Biophys. Acta; 4, 351 (1950).

<sup>1</sup> R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, to be published.

<sup>2</sup> R. CHESLEY, Rev. Sci. Instr. 18, 422 (1947).

radioactive phosphorus in active and inert bones<sup>1</sup>. In Fig. 2 photomicrographs of microradiograms from cross sections of bone from dog A are shown. The difference in absorption between the primary and the

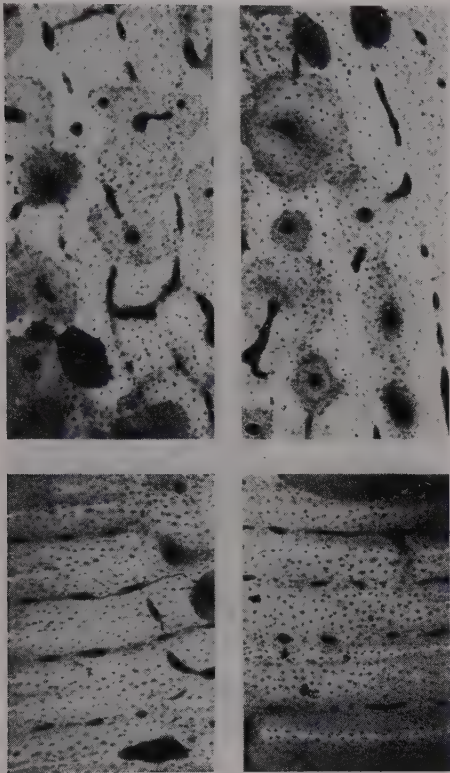


Fig. 2.

secondary bone and between different Haversian systems is apparent. When the sections were decalcified no contrast at all was obtained. Therefore the pictures show the distribution of mineral salts in the tissue.

Table III

Comparison between spacings in normally functioning and mechanically inert bones. Longitudinal sections

Ring	Spacing Å					
	Humerus Dog A		Radius Dog A		Metacarpus Dog B	
	Inert limb	Control limb	Inert limb	Control limb	Inert limb	Control limb
1			3.76	3.76	3.75	3.69
2	3.39	3.35	3.39	3.35	3.38	3.39
3			3.08	3.09	3.03	3.05
4	2.75	2.73	2.74	2.72	2.73	2.75
5			2.61	2.58	2.57	2.59
6	2.23	2.20	2.25	2.22	2.25	2.27
7			2.05	2.03	2.06	2.04
8	1.93	1.89	1.93	1.91	1.83	1.90
9	1.79	1.79	1.82	1.82	1.80	1.81
10	1.70	1.69	1.70	1.70	1.67	1.70

The results of the diffraction analysis are shown in Table III, which gives the spacings obtained from

<sup>1</sup> R.F.RILEY, B.McCLEARY, and R.E.JOHNSON, Amer. J. Physiol. 143, 677 (1945).

longitudinal sections. For the humerus of dog A only a few spacings are given, as the resolving power of the camera with such a small specimen to a film distance of 5.15 mm is small. The other diffractograms were taken with a specimen to a film distance of 9.85 mm. The orientation of the diffraction rings is the same in all diffractograms from longitudinal sections. In cross sections no orientation could be seen. In an extensive investigation BRANDENBERGER and SCHINZ<sup>1</sup> discussed the factors limiting the value of the diffraction method especially in the study of bone structures. Although the different apatite compounds possible in bone tissue show some slight difference in the X-ray diffraction picture, the results presented above tend to indicate that the ultrastructure of active as well as inactive bones is the same.

A. ENGSTRÖM and R. AMPRINO<sup>2</sup>

Department for Cell Research, Karolinska Institutet, Stockholm, January 15, 1950.

Zusammenfassung

Historiographische und Röntgeninterferenzuntersuchungen ergaben, daß zwischen aktiven und immobilisierten Knochen keine Unterschiede in der Ultrastruktur und im Gehalt an Kalziumsalzen des HAVERSchen Systems bestehen.

<sup>1</sup> E.BRANDENBERGER and H.R.SCHINZ, Helv. med. acta (A), Suppl. XVI, Beil. 12 (1945-46).

<sup>2</sup> Rockefeller Research Fellow. Present address: Dept. of Anatomy, University of Torino, Italy.

Sur les protéines extractibles du muscle strié après traitement de la pulpe par quelques solvants organiques

Divers auteurs ont signalé la possibilité d'extraire des protéines musculaires douées de caractères particuliers, après traitement de la pulpe par des solvants organiques. C'est ainsi que STRAUB<sup>1</sup>, en utilisant l'acétone, réussit à obtenir la G-actine et que BAILEY<sup>2</sup>, en employant l'alcool-éther, prépara la tropomyosine.

Nous avons procédé à une étude, par la méthode d'électrophorèse (technique de TISELIUS-LONGSWORTH<sup>3</sup>), de la distribution des protéines dans des extraits de diverses forces ioniques obtenus après traitement de la pulpe par divers solvants organiques.

1° Si la pulpe musculaire hachée est traitée directement par l'acétone (3 lavages successifs avec 5 volumes d'acétone anhydre), séchée, puis extraite par 10 volumes de KCl m et si l'on dialyse cet extrait contre une solution contenant 0,048 m Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,006 m NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et 0,25 m NaCl (p<sub>H</sub> ~ 7,4, µ 0,40), on obtient le cliché représenté fig. 1B, dont les gradients ont comme vitesses: à l'anode: M -1,5; A -4,4, T -5,6; à la cathode: M -1,35 et 2 autres: -3,85 et -4,7·10<sup>-5</sup> cm/sec.

La fig. 1A correspond à la même pulpe, identiquement traitée par l'acétone, mais extraite ensuite avec un mélange de phosphates de µ 0,15 et de p<sub>H</sub> 7,1. L'extrait est dialysé contre cette même solution avant l'électrophorèse.

<sup>1</sup> F.B.STRAUB, Stud. from the Inst. of med. Chem. Univ. Szeged 2, 3 (1942) et 2, 23 (1943); Hung. acta physiol. 1, 150 (1948).

<sup>2</sup> K.BAILEY, Nature (London) 157, 368 (1946); Bioch. J. 43, 271 et 279 (1948).

<sup>3</sup> M.DUBUISSON et J.JACOB, Bull. Soc. roy. Sci. Liège 14, 133 (1945).

2° Si la pulpe est *préalablement lavée à l'eau* (3 lavages successifs avec 10 volumes  $H_2O$ , avant le traitement par l'acétone — ce qui élimine la plupart des protéines aisément extractibles, comme celles appartenant au groupe du myogène), on obtient une moindre quantité de la composante la plus lente (M) et une augmentation de T. (Celle-ci, à la frontière descendante se marque, par un accroissement de la surface du gradient cathodique de vitesse  $-4,7 \cdot 10^{-5}$  cm/sec.)

3° Si l'*alcool-éther* (2 lavages avec 3 vol. d'alcool, puis 2 lavages avec 3 volumes d'éther) est utilisé en lieu et place de l'acétone dans les extraits des types 1 et 2 ci-dessus, les clichés obtenus sont identiques, mais les quantités de protéines extraites sont moins grandes pour tous les gradients. L'image obtenue est donc identique à la fig. 1, mais les gradients sont de surface moindre.

4° Comme les extraits du type 3 sont identiques à ceux dont part BAILEY pour préparer de la *tropomyosine*, celle-ci doit être représentée par l'un des gradients de la fig. 1. Afin de déterminer son emplacement, nous avons étudié, dans les mêmes conditions de dialyse et d'électrophorèse, un échantillon de la tropomyosine de BAILEY, très obligeamment fourni par cet auteur. Les clichés indiquent que la substance est homogène, dans les deux compartiments de la cellule à électrophorèse, et que sa vitesse, à  $\mu$  0,40 et  $p_H$  7,3 est, à l'anode: de  $-5,6$  et à la cathode de  $-4,9 \cdot 10^{-5}$  cm/seconde. C'est la même vitesse que celle du gradient T de la fig. 1B. D'ailleurs, si l'on ajoute de la tropomyosine à un extrait du type 3, c'est bien la frontière T qui est augmentée. Le gradient T doit donc être celui de la tropomyosine.

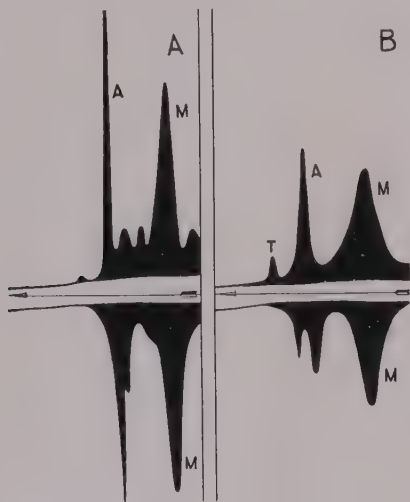


Fig. 1.

5° Si, *avant le traitement par l'acétone*, on enlève la *myosine de la pulpe musculaire* — en se plaçant dans des conditions identiques à celles que choisit STRAUB pour obtenir la pulpe sèche dont il extrait l'actine —, on peut obtenir celle-ci sous la forme monomère (G-actine) ou polymérisée (F-actine). Les vitesses électrocinétiques de la G-actine et de la F-actine sont très différentes, comme il a été établi précédemment (DUBUISSON<sup>1</sup>). En comparant ces résultats avec ceux obtenus avec un extrait du type 1) ci-dessus, également préparé par traitement de la pulpe par l'acétone, *mais sans extraction préalable des myosines*, on est amené à constater que le gradient A de la fig. 1 doit correspondre à celui de l'actine *dépolymé-*

*risée*. Il s'ensuit que l'on peut extraire de l'actine d'une pulpe, qu'elle soit ou non débarrassée de sa myosine avant le traitement par l'acétone, mais que la véritable G-actine, *susceptible de polymérisation*, ne peut s'obtenir que lorsqu'on a enlevé la myosine du muscle; si l'on n'effectue pas préalablement cette opération, on obtient une actine qui possède les propriétés électrocinétiques de la G-actine, mais non susceptible de polymérisation.

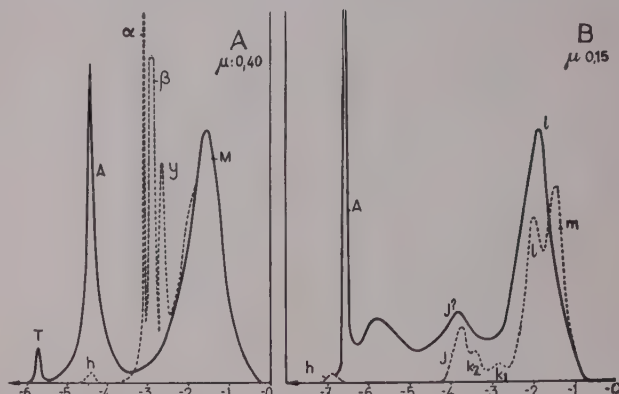


Fig. 2.

Nous avons sur la fig. 2 représenté les images électrophorétiques ascendantes obtenues, par dialyse dans les mêmes conditions, d'extraits de muscles traités (tracés en traits continus) ou non (tracés en traits interrompus) traités par les solvants organiques, à titre de comparaison. Les fig. 2A et 2B ne diffèrent que par la force ionique différente des extraits et des électrophorèses ( $\mu$  0,40 et 0,15).

Ces faits et diverses comparaisons entre un grand nombre d'extraits effectués dans des conditions différentes, mènent aux conclusions suivantes:

a) Lorsqu'on a épuisé, par de nombreux lavages à l'eau, le muscle de ses constituants aisément extractibles (myogène), le traitement subséquent par les solvants organiques (acétone ou alcool-éther) permet d'extraire à nouveau des protéines du groupe du myogène dont la vitesse est celle du gradient l de JACOB<sup>1</sup>. Parmi ces protéines figure vraisemblablement la myokinase<sup>2</sup>.

b) La pulpe traitée par les solvants organiques laisse extraire une certaine quantité d'actine. On obtient celle-ci, abondamment, sous une forme *dépolymérisée*, si les myosines n'ont pas été au préalable enlevées de la pulpe. S'il en est autrement, les solutions salines deviennent presque inefficaces par suite de la polymérisation de la G-actine *in loco* et *in situ* et seule l'eau, sans  $CO_2$ , réussit à enlever une certaine portion de G-actine, polymérisable par les sels.

c) La pulpe traitée par l'acétone, sans lavage préalable par de l'eau, ne semble pas contenir de tropomyosine extractible (absence du gradient T).

d) La tropomyosine s'extrait en plus grande abondance d'une pulpe traitée par l'acétone que d'une pulpe traitée par l'alcool puis l'éther.

e) Le sulfure de carbone et l'éther de pétrole, utilisés en lieu et place de l'acétone ou de l'alcool-éther, donnent des résultats semblables, mais avec un rendement en protéines beaucoup plus faible.

M. DUBUISSON

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 16 décembre 1949.

<sup>1</sup> J. JACOB, Bioch. J. 41, 83 (1947).

<sup>2</sup> A. DISTÈCHE, Nature 164, 70 (1949).

<sup>1</sup> M. DUBUISSON, Bioch. et biophysica acta, sous presse (1950).

### Summary

(1) When most of the proteins of the myogen group have been extracted by washing the muscle with water, it is still possible, if the muscle tissue is dehydrated by acetone, to extract new proteins of the myogen group, among them myokinase.

(2) If the muscle tissue is dehydrated by acetone, when most of the proteins of the myosin group have been extracted previously by washing the muscle with Weber's solution, it is then possible to extract G-actin with water, and this protein can be polymerized into F-actin by salts. If the myosins have not been extracted first, the G-actin obtained does not polymerize.

(3) If the muscle tissue is dehydrated by alcohol + ether (or better by acetone), tropomyosin can be obtained only if the muscle tissue has been previously washed with water.

(4) If acetone—or alcohol ether—is replaced by carbon disulfide or protein ether, one gets similar results, but less protein is extracted.

### Beitrag zur Analyse des postmortalen Verhaltens der Cochlearpotentiale

Das postmortale Schwinden der Cochlearpotentiale erfolgt bekanntlich in zwei Phasen, nämlich einer initialen Phase des raschen Abfalls und der anschließenden Phase einer wesentlich langsameren Abnahme der aus der initialen Phase resultierenden, vielfach auch als „*post mortem* response“ bezeichneten Restpotentiale (DAVIS<sup>1</sup> und Mitarbeiter, HALLPIKE und RAWDON-SMITH<sup>2</sup>). Eine von WEVER und Mitarbeiter<sup>3</sup> durchgeführte Untersuchung befaßte sich vorwiegend mit der zweiten Phase, zeigte aber auch, daß Steilheit und Ausmaß des initialen Potentialverlustes, vermutlich in Abhängigkeit von der Todesart, stark variieren. In eigenen Untersuchungen<sup>4</sup> wurde ein rascher Potentialverlust bei Anoxämie festgestellt und die Identität dieser Erscheinung mit der initialen Phase des postmortalen Potentialschwundes vermutet. Die Befunde und Schlußfolgerungen der Verfasser stimmen diesbezüglich mit einer wenige Monate später veröffentlichten unabhängigen Untersuchung der gleichen Frage durch WEVER und Mitarbeiter<sup>5</sup> vollständig überein. Da die Ergebnisse dieser und der eingangs erwähnten Autoren auf Grund punktförmiger Messungen gewonnen wurden und infolgedessen keine Einzelheiten der rasch verlaufenden initialen postmortalen Phase erkennen lassen, wurde versucht, mittels fortlaufender Registrierung genauere Aufschlüsse über Ausmaß und zeitlichen Verlauf der in dieser Phase erfolgenden Änderungen sowie über ihre Variabilität unter definierten Versuchsbedingungen zu erhalten.

Bei zwölf Meerschweinchen wurde in Urethannarkose (2,0 g/kg) das runde Fenster durch Eröffnung der Bulla freigelegt. Hierauf wurden während künstlicher Beatmung des Versuchstieres (Trachealkanüle und Starlingsche Atempumpe) Thorax und Herzbeutel unter Vermeidung stärkerer Blutung eröffnet und eine Fadenschlinge um die Aorta gelegt, jedoch nicht zugezogen. Die Amplitudengröße der

vom runden Fenster bzw. seiner Umgebung mittels chlorierter Silberelektroden abgeleiteten und am Kathodenstrahloszillographen (vierstufige Verstärkung) dargestellten Potentiale wurde nach Kontrolle ihrer Konstanz mittels Photokymographion als Hüllkurve registriert (Filmgeschwindigkeit 3 mm/sec, Zeitschreibung 5 sec). Als Schallreiz wurde in allen Versuchen ein reiner Ton von 2800 Hz und 20 dyn/cm<sup>2</sup> (an Stelle des Ohres gemessen) verwendet, wobei die Größe der erhaltenen unbeeinflussten Potentiale in 4 Fällen (Ableitung von der Membran des runden Fensters)  $240 \pm 38 \mu\text{V}$ , in 8 Fällen (Ableitung von der knöchernen Umgebung des runden Fensters)  $81 \pm 12 \mu\text{V}$  betrug. Etwa eine Minute nach Beginn der Registrierung wurde die um die Aorta gelegte Schlinge ruckartig zugezogen und der Zeitpunkt der Ligatur mittels Lichtsignal im Film markiert. 2 Minuten später wurde die Filmgeschwindigkeit verlangsamt, 10 Minuten nach der Ligatur die Registrierung beendet. Die bis zur Ligatur durchgeführte künstliche Beatmung erfolgte bei sechs Tieren mit Luft-O<sub>2</sub>-Gemisch, bei den übrigen sechs Tieren mit einem N<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>-Gemisch (6% O<sub>2</sub>). In den letzteren Fällen wurde die Atemfrequenz zunächst allmählich verlangsamt, bis die Potentiale infolge der eintretenden Anoxie zu schwinden begannen, und hierauf soweit beschleunigt, daß eben Restitution der Potentiale erfolgte. Diese Versuchstiere befanden sich daher bei Beginn der Registrierung im Zustande einer sich in den Cochlearpotentialen noch nicht ausprägenden Hypoxie. Bei der Auswertung der registrierten Kurven wurde als Beginn des Potentialschwundes jeweils derjenige Zeitpunkt bestimmt, bei welchem ein Potentialverlust von 2% eingetreten war. Die Größe der relativen Änderungen wurde in der üblichen Weise in logarithmischem Maßstab (Dezibel) ausgedrückt, die statistische Auswertung der Ergebnisse (Kleinstichprobenverfahren, t-Test, F-Test) nach den Tabellen von LINDER<sup>1</sup> vorgenommen.

Während orientierende frühere Untersuchungen unter weniger definierten Bedingungen (Tötung des Tieres mittels Chloroform) einen annähernd S-förmigen Verlauf des initialen Potentialverlustes gezeigt hatten, wobei das maximale Gefälle der Kurven stark schwankte, setzte unter den oben beschriebenen Versuchsbedingungen der Potentialsturz bereits  $3,2 \pm 0,9$  sec nach Ligatur der Aorta mit größter Steilheit ein und zeigte einen exponentialen Verlauf, indem er nach 30–60 sec merklich an Steilheit abnahm und nach 90–120 sec allmählich in die langsamer schwindende „*post mortem* response“ überging. Bemerkenswert war dabei das durchaus gleichartige Verhalten aller Tiere in der ersten Phase (Verlust 60 sec nach der Ligatur:  $5,7 \pm 0,8$  db), während die Größe der „*post mortem* response“ eine wesentlich stärkere Streuung als der primäre Abfall zeigte (Verlust 5 min nach der Ligatur:  $10,9 \pm 2,7$  db). Der Unterschied beider Streuungen war statistisch sicherzustellen ( $P < 0,001$ ), gleichzeitig ergab sich eine schwach gesicherte positive Korrelation zwischen den Werten beider Zeitpunkte ( $r = 0,61$ ;  $P < 0,05$ ). Dies spricht für eine komplexe Natur der zwischen beiden Phasen bestehenden Beziehung. Zwischen den beiden Versuchsreihen (vor der Ligatur normal mit O<sub>2</sub> versorgt bzw. hypoxämisch) war kein signifikanter Unterschied nachzuweisen, was zusammen mit dem außerordentlich raschen Einsetzen des initialen Potentialschwundes (3,2 sec) auf das Fehlen nennenswerter ausnützbarer O<sub>2</sub>-Reserven im Cortischen Organ schließen läßt.

H. BORNSCHEIN und F. KREJCI

Physiologisches Institut der Universität Wien und I. Universitätsklinik für Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten, Wien, den 10. Januar 1950.

### Summary

The rapid initial drop of cochlear potentials after ligation of the aorta was investigated in twelve experiments on guinea-pigs. The loss began after  $3.2 \pm 0.9$  sec

<sup>1</sup> A. LINDER, *Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure* (Birkhäuser, Basel 1945).

<sup>1</sup> H. DAVIS, A. J. DERBYSHIRE, M. H. LURIE und L. J. SAUL, *Amer. J. Physiol.* 107, 311 (1934).

<sup>2</sup> C. S. HALLPIKE und A. F. RAWDON-SMITH, *J. Physiol.* 81, 395 (1934).

<sup>3</sup> E. G. WEVER, C. E. BRAY und M. LAWRENCE, *Ann. Otol. Rhinol. a. Laryngol.* 50, 317 (1941).

<sup>4</sup> H. BORNSCHEIN und F. KREJCI, *Msschr. Ohrenheilk.* 83, 190 (1949).

<sup>5</sup> E. G. WEVER, M. LAWRENCE, R. W. HEMPHILL und C. B. STRAUT, *Amer. J. Physiol.* 159, 199 (1949).

latency with the most rapid rate of decline and reached in 60 sec an amount of  $5.7 \pm 0.8$  db. The variability of the subsequent *post mortem* response was significantly greater (loss after 5 min:  $10.9 \pm 2.7$  db). The correlation coefficient of the values was positive and slightly significant. Hypoxæmic state before ligation of the aorta had no influence on the behaviour of the potentials. This suggests a remarkable lack of oxygen reserves in the organ of Corti.

### Influence du $p_H$ du liquide céphalo-rachidien sur la respiration

Alors que l'influence de la composition en ions minéraux du liquide céphalo-rachidien sur la respiration a fait l'objet de recherches antérieures<sup>1</sup>, nous n'avons pu trouver dans la littérature aucun renseignement concernant les effets du  $p_H$  de ce liquide sur la respiration. Ces données présentent cependant de l'importance au point de vue de la pathologie, étant donné que plusieurs états pathologiques s'accompagnent de modifications du  $p_H$  du liquide céphalo-rachidien. On observe notamment que dans l'alcalose et dans l'acidose, le  $p_H$  du liquide céphalo-rachidien se modifie dans le même sens que celui du sang. D'autre part, il se produit un abaissement du  $p_H$ , indépendamment du  $p_H$  sanguin, en cas de méningite.

Il nous a par conséquent semblé intéressant d'étudier expérimentalement les effets respiratoires des modifications du  $p_H$  du liquide céphalo-rachidien. Nous avons choisi comme animal d'expérience le chien. Pour modifier le  $p_H$  du liquide céphalo-rachidien nous avons, sous anesthésie à la morphine-chloralosane, perfusé les ventricules cérébraux, au moyen d'une technique précédemment décrite par nous<sup>2</sup>, avec une solution dont la composition était très voisine de celle du liquide céphalo-rachidien normal<sup>3</sup> et dont le  $p_H$  pouvait être modifié à volonté en y faisant barbotter des quantités variables de  $CO_2$ . En employant alternativement, pour cette perfusion, plusieurs solutions à teneur différente de  $CO_2$ , nous avons examiné l'influence centrale directe de plusieurs concentrations d'ions H ou de  $CO_2$ , nos expériences ne nous permettant pas de faire une discrimination entre ces deux facteurs.

Voici brièvement nos résultats:

La perfusion des ventricules cérébraux avec une solution d'un  $p_H$  de 7,3 à 7,4 ne modifie pas d'une façon notable la respiration. Lorsqu'on passe de cette solution au liquide dont le  $p_H$  était modifié dans le sens acide de façon à atteindre les chiffres de 7,2 à 7,0, il se produisait une augmentation de la fréquence, de l'amplitude et du volume respiratoires. Au contraire, au cours de la perfusion des ventricules cérébraux avec une solution dont le  $p_H$  était modifié dans le sens alcalin (7,6 à 8,0) la respiration était déprimée. Dans ces conditions, le type respiratoire était cependant irrégulier chez des animaux disposant de leurs chémo-récepteurs du système artériel; au contraire, après énévation de ces chémo-récepteurs par section des nerfs vagues et sinocarotidiens, la fréquence, l'amplitude et le volume respiratoires étaient régulièrement et nettement déprimés lors de la perfusion des ventricules cérébraux avec une solution alcaline. La différence de réaction entre les animaux disposant de

leurs chémo-récepteurs et ceux dont les chémo-récepteurs étaient énévés doit très probablement s'expliquer par le fait que l'inhibition respiratoire, déterminée par la présence de la solution alcaline dans les ventricules, déterminait une accumulation de  $CO_2$  dans le sang, qui pouvait provoquer à son tour des poussées de stimulation au cours de la dépression respiratoire; ce phénomène était supprimé par l'énévation des chémo-récepteurs.

Les modifications respiratoires décrites ci-dessus sont réversibles lors du retour à la perfusion au moyen du liquide de perfusion à  $p_H$  normal. Après perfusion avec un liquide à  $p_H$  abaissé par excès de  $CO_2$ , le retour à l'activité respiratoire antérieure lors de la perfusion avec le liquide à  $p_H$  normal n'est toutefois pas complet, cette activité s'établissant à un niveau inférieur à celui observé au cours de la perfusion avec la solution à  $p_H$  bas, mais plus élevé qu'au cours de la perfusion avec le liquide normal qui précédait l'emploi de la solution à  $p_H$  abaissé.

I. LEUSEN<sup>1</sup>

Laboratoire de pathologie et de thérapeutique générales de l'Université de Gand (Belgique), le 15 février 1950.

### Summary

The perfusion of the cerebral ventricles of dogs with a solution with low  $p_H$  (7.2–7.0) produces a stimulation of the respiration, whereas the perfusion with an alkaline solution ( $p_H$  7.6–8.0) determines an inhibition of the respiration. These changes are reversible.

<sup>1</sup> Ce travail a été exécuté en partie grâce à un subside du «Fonds National de la Recherche Scientifique» accordé au Professeur J. J. BOUCKAERT.

### Sur la désensibilisation histaminique chez le cobaye et chez le rat

On sait que l'administration quotidienne de doses croissantes d'Histamine peut accroître la résistance des animaux de laboratoire aux effets de cette amine; toutefois, les résultats sont variables selon l'espèce animale et les tests considérés et, en ce qui concerne le cobaye, ils sont assez contradictoires<sup>1</sup>. C'est pourquoi nous avons étudié ces phénomènes de façon comparative chez le cobaye et chez le rat en recherchant les modifications éventuelles de la toxicité de l'Histamine et de ses actions sur la régulation thermique, sur la sécrétion gastrique et sur les musculatures intestinale et utérine.

Deux lots de cobayes furent traités quotidiennement et pendant un mois: 1° le premier, avec des doses croissantes de 0,1 à 0,4 mg d'Histamine S-C<sup>2</sup>; 2° le second, avec des aérosols de plus en plus prolongés et de plus en plus concentrés; dans ce dernier cas chaque animal subissait deux expositions par jour et celles-ci duraient jusqu'au moment de la chute préagonique.

<sup>1</sup> F. KOKAS, L. SARKADY et I. WENT, Magy. Orv. Arch. 39, 408 (1938). – G. CLARK et E. M. MAC KAY, Amer. J. Physiol. 126, 465 (1939). – S. KARADY, J. Immunol. 41, 1 (1941). – J. A. WELLS, J. S. GRAY et C. A. DRAGSTEDT, J. Allerg. 13, 77 (1941). – B. ISSEKUTZ et P. GERNERISCH, Arch. exp. Path. Pharm. 202, 201 (1943). – R. L. MAYER et J. SUMMIT, 17, 53 (1946). – N. JANCSE, Nature 160, 227 (1947). – M. FABINYI et J. SZEBEHELYI, Arch. int. Pharmacodyn. 75, 402 (1948). – K. BUCHER, Arch. int. Pharmacodyn. 79, 336 (1949).

<sup>2</sup> Toutes les doses d'Histamine (biochlorhydrate) et des autres substances sont exprimées pour 100 g de poids corporel.

<sup>1</sup> J. M. VERSTRAETEN, Arch. int. Pharmacodyn. 77, 52 (1948).

<sup>2</sup> I. LEUSEN, Arch. int. Pharmacodyn. 75, 422 (1948).

<sup>3</sup> I. LEUSEN, Exper. 4, 154 (1948).

Deux lots de rats furent injectés chaque jour: a) le premier, avec 5 à 40 mg S-C pendant un mois; b) le second, avec 30 à 100 mg S-C pendant 10 jours.

Chez les cobayes, la toxicité aiguë de l’Histamine, par voies pulmonaire et sous-cutanée, fut nettement abaissée par le traitement. Au départ, ces animaux supportaient seulement une exposition de 3 minutes, au maximum, à un aérosol obtenu à partir d’une solution de 20‰. Après un mois, ils résistaient 10 minutes à des aérosols à 5 et à 10‰. – De même, l’injection sous-cutanée de 1,2 mg – qui engendrait, chez les témoins, une dyspnée mortelle dans la première demie-heure – causa seulement une dyspnée sévère mais non mortelle chez les traités; toutefois 50% de ceux-ci succombèrent après 48 heures, de cause indéterminée. 2 mg de Néoantergan protégeaient tous les animaux injectés avec 1,2 mg d’Histamine.

Chez les rats, la toxicité de l’Histamine ne fut pas modifiée: pour la souche utilisée, la dose léthale intrapéritonéale fut de 150 mg, aussi bien chez les rats traités que chez les témoins. Par contre, 2 mg de Néoantergan assuraient une protection complète.

En confirmation des observations de JANCOS<sup>1</sup> et de FABINYI et SZEBEHELYI<sup>1</sup> l’hypothermie histaminique (provoquée par 0,1 mg chez le cobaye et par 5 mg chez le rat) diminue, puis est abolie chez les animaux «désensibilisés»; elle réapparaît 2 à 4 jours après cessation du traitement. Elle peut également être prévenue par le Néoantergan, le Phenergan, la Pyribenzamine et l’Antistine (0,01 mg chez le cobaye, 0,5 à 1 mg chez le rat). – Ces antihistaminiques de synthèse engendrent eux-mêmes, à doses plus élevées, une chute de température de 1 à 2° C qui apparaît aussi bien chez les traités que chez les témoins.

La sécrétion gastrique histaminique est peu influencée. Chez les cobayes traités par aérosols, elle ne l’est pas du tout. – Chez les cobayes traités par voie sous-cutanée, on observe une réduction de l’acidité totale et libre du suc gastrique et de son volume. – Chez les rats «désensibilisés», ni le volume ni l’acidité totale ne sont modifiés; l’acidité libre est diminuée de façon inconstante. – Les ulcères gastriques expérimentaux (méthode de SHAY et coll.<sup>2</sup>) se développent aussi bien chez les animaux traités que chez les témoins.

La motilité intestinale et utérine n’est pas modifiée: des anses intestinales et des cornes utérines prélevées sur des animaux traités se comportent, *in vitro*, comme ces mêmes organes obtenus à partir de témoins.

Au cours de ces expériences, nous avons incidemment observé que les rats accusaient de moins en moins violemment la douleur provoquée par les injections quotidiennes d’Histamine. Leur sensibilité thermalgésique mesurée par les méthodes de DAVIES et coll.<sup>3</sup> et de SIVADJIAN<sup>4</sup>, décroît de jour en jour et cette analgésie – qui peut atteindre un degré assez considérable – rétrocede après cessation du traitement.

Le tableau ci-après résume une expérience de ce type, entreprise sur un troisième groupe de rats.

En somme, l’administration prolongée d’Histamine protège le cobaye aussi bien que le rat contre certaines actions pharmacologiques de cette amine (bronchospasme chez le cobaye, hypothermie chez le rat et le

cobaye); son effet sur la sécrétion gastrique histaminique est douteux; la toxicité chez le rat et les actions sur les motilités utérine et intestinale ne sont pas modifiées.

Action analgésique de l’administration quotidienne d’Histamine chez le rat

Jours	Traitement Histamine I. P. mg/100 g	Test de DAVIES et coll.		Test de SIVADJIAN	
		Temps de réact. (en s) Moyenne des mesures	Indice * critique	Volt. limin. (en un. arb.) Moyenne des mesures	Indice * critique
1		5,7		2	
2	← 50	7,3	1,28	2,45	1,55
3	← 100	8,9	2,68	2,55	1,92
4	← 100	10	4,30	3,10	2,08
5	← 100	11,3	5,41	3,35	3,28
6	← 100	12,5	6,55	4,5	6,38
7	← 100	13,4	7,95	4,5	6,38
8	0	9,4	4,18	4	6,10
9	0	7,4	2,12	3,7	5,45
10	0	5,6	<1	2,9	2,62

\* L’indice critique a été calculé selon la formule:

$$\sqrt{t} = \frac{m_x - m_y}{\sqrt{\frac{\sum d^2x + \sum d^2y}{N(N-1)}}$$

où m moyenne des mesures  
d écart individuel à partir de la moyenne  
N nombre d’animaux (9 dans cette expérience)

Les indices x et y se rapportent, respectivement, aux valeurs du jour correspondant et à celles du 1<sup>er</sup> jour, considérées comme valeurs témoins. Les résultats sont significatifs si t > 2,92.

Compte tenu des doses massives qui ont été administrées, la «désensibilisation histaminique» nous est apparue, dans l’ensemble, moins efficace et plus limitée que la protection conférée par les antihistaminiques de synthèse. Si cette désensibilisation est réellement spécifique, l’apparition d’une analgésie chez le rat traité plaiderait en faveur d’une intervention d’Histamine endogène dans les phénomènes de la douleur, hypothèse déjà avancée par ROSENTHAL et MINARD<sup>1</sup>.

J. AMBRUS, C. AMBRUS et J. JACOB

Laboratoire de pharmacodynamie, Service de chimie thérapeutique de l’Institut Pasteur de Paris et Ella Sachs Plotz Foundation de New-York, Paris, le 8 mars 1950.

Summary

In spite of contradicting data in the literature, chronic administration of graded doses of Histamine protects guinea-pigs as well as rats against some effects of this substance (bronchospasm in the guinea-pig, temperature reducing effect in both species); acute toxicity in the rat, gastric secretion and uterine and intestinal motilities in both species, are scarcely affected.—During Histamine desensibilization, analgesia develops in rats.

Owing to the massive chronic dosage used, Histamine desensibilisation appears less effective and more limited than protection afforded by synthetic antihistamines.

<sup>1</sup> S. R. ROSENTHAL et D. MINARD, J. exper. Med. 70 (1939).

<sup>1</sup> Loc. cit.  
<sup>2</sup> H. SHAY et coll., Gastroenterology 5, 43 (1945).  
<sup>3</sup> O. L. DAVIES, J. RAVENTOS et A. L. WALPOLE, Brit. J. Pharmacol. 1, 255 (1946).  
<sup>4</sup> J. SIVADJIAN, Arch. int. Pharmacodyn. 52, 142 (1936).

### Surcharge lipidique de l'organisme dans l'intoxication chronique du chien par le $\gamma$ -hexachlorocyclohexane

Nous avons signalé en 1948<sup>1</sup> la surcharge graisseuse du foie, constatée à l'autopsie de chiens et de lapins intoxiqués par des injections intramusculaires de l'isomère  $\gamma$  de l'hexachlorocyclohexane (HCH). Nous avons repris ces expériences, avec des contrôles histologiques rigoureux, en injectant à des chiens, par voie intramusculaire, 130 à 475 mg/kg de  $\gamma$ -HCH en solution huileuse à 10 %, à raison de 10 à 30 mg/kg par injection. Les animaux sont morts ou ont été sacrifiés 7 à 44 jours après le début des injections. L'examen histologique a révélé que ce n'est pas uniquement le foie, mais tout l'organisme qui subit une surcharge ou une dégénérescence lipidique.

Dans certains organes et tissus, comme la peau, la rate, les ganglions lymphatiques ou encore les trompes utérines, les graisses paraissent limitées aux cellules adipeuses et aux macrophages. Ceux-ci sont nombreux et bourrés de gouttelettes lipidiques. D'autres tissus et organes sont atteints dans leur parenchyme même. Les noyaux sont toujours intacts et nous n'avons pas vu de signes d'activité antimitotique; il n'y a pas de destructions cellulaires.

Le foie montre une surcharge graisseuse des cellules parenchymateuses qui débute autour des espaces périlobulaires, mais peut s'étendre à l'ensemble du lobule. Les parois vasculaires et le tissu conjonctif des espaces stellaires sont épargnés. Par contre, l'épithélium des canalicules biliaires porte une surcharge lipidique et celle-ci s'étend aux voies biliaires, y compris la vésicule.

Les tissus musculaires sont atteints de manière irrégulière: à côté de fibres striées normales, on voit des fibres dans lesquelles les myofibrilles portent des chapelets de granules lipidiques qui sont liés, à l'origine, aux disques sombres. Il en est de même pour le myocarde, mais ici la dégénérescence débute dans le sacroplasma périnucléaire; elle s'arrête nettement aux disques intercalaires, montrant l'individualité biochimique des éléments musculaires cardiaques. Nous n'avons observé une dégénérescence graisseuse des muscles lisses que dans l'utérus, où la muqueuse et les glandes portent une forte surcharge lipidique.

Au niveau du système nerveux, tant périphérique que central, on décèle un processus très particulier de dégénérescence graisseuse. Des granules lipidiques apparaissent dans le cytoplasme des cellules nerveuses; ces granules se regroupent en un ou plusieurs endroits de la cellule, de préférence à sa périphérie, et s'entourent d'une vacuole. La vacuole fait saillie à la surface de la cellule et crève. Dans le système nerveux périphérique, qu'il s'agisse de ganglions spinaux ou de ganglions végétatifs, les granules sont repris par des histiocytes. Dans le système nerveux central, ils sont repris par des cellules de microglie qui les transportent vers les espaces périvasculaires de VIRCHOW-ROBIN où les gouttelettes forment des gouttes plus importantes qui passent aux espaces sous-arachnoïdiens; nous les retrouvons accumulées à proximité des grosses veines et des sinus. La dégénérescence graisseuse ne paraît pas toucher les prolongements cylindriques, ni les gaines de myéline; cependant des indices histochemiques suggèrent une modification de la structure lipidique des gaines de myéline.

<sup>1</sup> M. J. DALLEMAGNE et E. PHILLIPOT, Arch. int. Pharmacod. Théor. 76, 274 (1948).

Parmi d'autres organes atteints, signalons le poumon où nous trouvons des graisses non seulement dans les macrophages, mais aussi dans l'épithélium des bronchioles.

Enfin, le rein montre une surcharge importante, à grosses gouttelettes, dans les cellules des portions terminales, rectilignes, des tubes contournés proximaux; les autres portions des tubes contournés ne portent qu'une surcharge très discrète; on aperçoit quelques gouttelettes dans la lumière des tubes. La médullaire est intacte, sauf au niveau des portions finales des tubes collecteurs où l'on trouve, à côté de cylindres hyalins, des boudins graisseux extracellulaires. On aperçoit encore de la surcharge lipidique dans l'épithélium des calices et du bassinnet, mais pas dans celui de l'uretère.

À côté des localisations principales de la surcharge lipidique – parenchyme hépatique, muscles striés squelettiques et cardiaque, tissu nerveux, reins – on trouve donc des dépôts de graisses dans certains muscles lisses, dans certains épithéliums glandulaires et dans le système histiocyttaire.

La surcharge lipidique dans l'intoxication expérimentale chronique par le  $\gamma$ -HCH ne semble pas due uniquement à un dépôt de graisses alimentaires. En effet, la localisation des lipides à des endroits où normalement on trouve des dépôts importants de glycogène (foie, muscle, muqueuse utérine) suggère une déviation du métabolisme des glucides et des lipides. D'autre part, la disposition très particulière des granules graisseux dans les cellules nerveuses et surtout dans les muscles striés ne peut s'expliquer, à notre avis, que par une rupture des cénapses lipo-protidique avec démasquage des constituants lipidiques de ces cénapses.

M. J. DALLEMAGNE, M. A. GEREBTZOFF et E. PHILIPPOT

Instituts de thérapeutique expérimentale (Dept. de pharmacodynamie) et d'anatomie de l'Université de Liège, le 26 novembre 1949.

#### Summary

Experimental researches on  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane chronic intoxication on dogs show a general fatty degeneration of the organism: fat deposits exist in the liver, muscles, nervous tissue, kidneys, and other organs, and in the histiocytary system. Most peculiar is the degeneration of nerve cells and that of myofibrils in skeletal and cardiac muscle fibres, suggesting a rupture of lipo-protidic cénapses.

#### PRO LABORATORIO

### Modification de l'appareil à aération de Van Slyke-Cullen et son adaptation au microdosage de l'azote protéique après Kjeldhalisation et entraînement à froid de l'ammoniac

VAN SLYKE et CULLEN<sup>1</sup> ont décrit un assemblage fréquemment utilisé pour le dosage de l'urée dans lequel, après transformation de l'urée en carbonate ammonique par l'action de l'uréase, l'ammoniac est libéré par un alcalin et entraîné par barbotage d'air jusque dans une solution acide dont l'excès est titré, traduisant ainsi la

<sup>1</sup> D. D. VAN SLYKE et G. E. CULLEN, J. Biol. Chem. 24, 117 (1916).

proportion d'urée dans l'échantillon soumis au dosage. Nous avons élargi l'usage de cet appareil en l'adaptant au dosage de l'azote de matière protéiques quelconques, supprimant les transvasements et les distillations à chaud, tous deux générateurs de pertes matérielles et de temps. De plus, nous avons modifié l'appareil original de façon à assurer une étanchéité permanente au cours de l'opération entière en réalisant un système clos n'exigeant plus l'ouverture des récipients dès après la digestion sulfurique.

Nos essais ont porté sur divers microdosages de substances azotées en portant la limite de sensibilité au dixième de milligramme d'azote: sels ammoniacaux, urée, tyrosine, sérum, fibrinogène. Les résultats obtenus livrent des chiffres qui voisinent avec les valeurs théoriques. Nous dosons les divers éléments azotés du sang, avec détermination concomitante de l'urée par le procédé à l'uréase, dans le même appareil et en une matinée. Nous utilisons soit une rampe de Kjeldahlisation constituée par une résistance électrique rectiligne pouvant chauffer plusieurs tubes, soit de préférence un bain de sable. – La Kjeldahlisation se fait suivant la technique classique mais en utilisant les tubes Pyrex de 200 × 25 mm servant dans l'appareil à uréase de VAN SLYKE-CULLEN pour y opérer la digestion sulfurique. Le produit de digestion est laissé dans le tube. Une fois refroidi, on y ajoute goutte à goutte 3 cm<sup>3</sup> d'eau bidistillée bouillie et on bouche au moyen du bouchon en caoutchouc muni de son tube barboteur et du tube à dégagement. Ce bouchon livrera, en outre, passage à un troisième tube adducteur de l'alcalin (NaOH 50%) destiné à libérer l'ammoniac du digestat.

Ceci constitue la modification de l'appareil original de VAN SLYKE-CULLEN. Ce troisième tube dépasse de 1 cm la face inférieure du bouchon et est muni, du côté de la face supérieure du bouchon, d'un robinet rodé. Ce tube, enfin, se prolonge, au-dessus du robinet, en entonnoir allongé de la forme de la partie médiane d'une pipette volumétrique de 15 cm<sup>3</sup> sectionnée à la partie la plus distale. Lors de la dépression opérée dans le système par l'ouverture de la pompe à vide, le robinet de ce troisième tube est ouvert livrant passage à la presque totalité de NaOH 50% qui a été, au préalable, versée dans cet entonnoir. On ferme le robinet et l'ammoniac, entraîné à froid par la succion opérée par la pompe, est reçu par barbotage dans la solution acide qui garnit le tube correspondant de l'appareil de VAN SLYKE. Le barbotage est continué durant 30 à 45 minutes à une allure modérée qui évite la condensation d'eau dans le tube Pyrex. Peu avant la fin de l'opération on reprend, par inclinaison du tube contenant le digestat et l'alcalin, l'eau qui aurait pu se condenser sur les parties supérieures du tube et qui pourrait retenir du gaz ammoniac. On laisse barboter encore quelques instants et on titre enfin l'excès d'acide par NaOH en présence de rouge de méthyle.

J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE

Laboratoire médical d'Elisabethville, Congo belge, le 1<sup>er</sup> avril 1950.

### Summary

VAN SLYKE and CULLEN devised and described the use of an aeration-assembly for the estimation of urinary and blood urea by the titration of ammonia set free out of a blood-urease mixture treated with an alkaline solution and aerated into a solution of known acidity. This assembly has been modified and adapted to a microkjeldahl procedure suitable for the estimation of all kind of proteinic matter by employing the reaction-

tube itself for the Kjeldahl digestion and titrating the ammonium salt thus formed by cold-aeration technic in the same apparatus without loss of solution and without hot distillation. Correct manipulation attains a sensitivity of 0.1 mg nitrogen.

### Modification de la cellule de Conway pour les dosages par microdiffusion

CONWAY<sup>1</sup>, VAN SLYKE<sup>2</sup> ont respectivement décrit et relaté l'emploi d'une cellule pour la diffusion de gaz libérés lors de réactions susceptibles de les dégager de leurs combinaisons et pour leur absorption dans une solution titrée dont l'excès, titré à son tour, peut déterminer le pourcentage de l'élément à doser dans l'échantillon original. Comme il s'agit toujours de microdosages affectant des différences de quelques gammas il nous a semblé opportun de relater la modification que nous avons apportée à la cellule originale de CONWAY et qui tend à éliminer les erreurs provenant, en ordre principal, des fuites du gaz à doser rendues inévitables par la conception de la cellule et par les manipulations que cette conception impose. En effet, la cellule doit être ouverte pour y introduire les réactifs destinés à dégager les gaz des combinaisons qui ont pris naissance dans le premier temps de l'opération. La réaction est immédiate et, entre l'écoulement total du réactif hors de la pipette qui l'amène à la cellule et la fermeture de celle-ci, des gaz dégagés peuvent se perdre. Les précautions recommandées par CONWAY pour réduire au strict minimum le temps d'ouverture de la cellule illustrent à suffisance ce défaut majeur de «l'unité» utilisée jusqu'à présent.

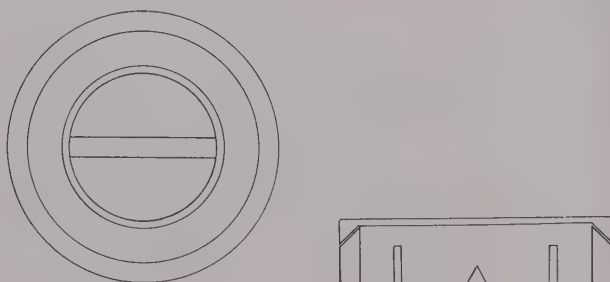
La modification que nous avons apportée à la cellule de CONWAY et que nous décrivons ici permet d'obvier à ces inconvénients et d'obtenir des résultats situés à la limite des chiffres théoriques.

La cellule modifiée est constituée par deux boîtes circulaires concentriques en verre de la forme de petites boîtes de Petri dont la plus grande est rodée extérieurement sur le tiers supérieur de sa hauteur, en pente légèrement inclinée (cône tronqué), de façon à pouvoir être emboîtée par un couvercle, rodé également sur son pourtour interne, qui épouse la forme du rodage de la boîte inférieure et assure l'étanchéité du système. – La petite cellule interne est disposée au centre de la première et laisse entre elle et la cellule externe une rigole destinée à recevoir la solution absorbante du gaz dégagé de la cellule centrale par la réaction chimique qui le libère. La paroi latérale de la cellule interne est moins élevée que celle de la cellule externe. Cette cellule interne est, en outre, divisée transversalement en deux compartiments affectant la forme d'un demi-cercle par une arête prismatique en verre. Cette arête est, à son tour, moins élevée que les parois de la cellule interne qu'elle divise, de façon à permettre le mélange des solutions contenues dans ses deux compartiments sans risque d'écoulement de celles-ci dans la rigole externe. La petite boîte reçoit dans un de ses compartiments l'élément à doser (plus l'uréase dans le cas du dosage de l'urée) qui fournira le gaz; dans l'autre compartiment elle reçoit la solution qui le libérera. Le mélange des solutions contenues dans les deux compartiments de la cellule centrale est opéré par un mouvement à la fois

<sup>1</sup> E. J. CONWAY, *Microdiffusion, Analysis, and Volumetric Error*. (Crosby Lockwood & Son, Ltd., London, 1947).

<sup>2</sup> DAVID E. GREEN, *Currents in Biochemical Research*. (Interscience Publishers, Inc. New York, 1946), p. 118.

circulaire et basculant imposé à l'unité, celle-ci étant fermée. Le titrage de la solution contenue dans la rigole externe se fait au moyen d'une solution contenue dans une microburette et s'en écoule directement dans la rigole de l'«unité».



Moyennant une manipulation méticuleuse la cellule ainsi modifiée nous a permis de doser des quantités de l'ordre de vingt gammas d'azote d'une quantité correspondante de sulfate ammonique.

Les diverses mensurations de l'unité décrite sont les suivantes:

Diamètre intérieur de la grande cellule . . .	60 mm
Hauteur des parois de la grande cellule . . .	15 mm
Diamètre intérieur de la cellule interne . . .	38 mm
Hauteur des parois de la cellule interne . . .	10 mm
Épaisseur de la paroi latérale de la cellule interne . . .	2 mm
Arête prismatique: base 5 mm, hauteur . . .	5 mm

Largeur de la rigole séparant les deux cellules. . . 9 mm  
La paroi de la cellule externe aura . . . . . 5 mm

d'épaisseur pour permettre au rodage conique supérieur d'avoir une surface suffisante de contact.

Les nombreuses applications proposées par CONWAY dans son ouvrage sur la microdiffusion s'exécutent plus aisément dans la cellule modifiée et nous sommes en droit de penser que la conception de celle-ci permettra la mise au point de nouvelles techniques que l'ancienne cellule à deux compartiments concentriques non divisés pouvait éventuellement compliquer ou rendre impraticables.

J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE

Laboratoire médical d'Elisabethville, Congo belge,  
le 1<sup>er</sup> avril 1950.

#### Summary

CONWAY has devised and described the use of a cell "unit" for the microdiffusion of gases produced by the reaction of biological or other matter with reagents liberating from it diffusible gases into a solution that can be titrated back again. This unit has been modified in regard to the loss of gases from the original cell, inevitable when it is handled according to the requirements of the proper technic. The procedure also is simplified into a one-step manipulation and results have been obtained permitting the titration of twenty micrograms of nitrogen in an urea or ammoniacal salt estimation.

## Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

### Naturwissenschaft – Religion – Weltanschauung

Arbeitstagung des Gmelin-Instituts für anorganische Chemie und Grenzgebiete in der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften. 421 Seiten. (Gmelin-Verlag GmbH., Clausthal-Zellerfeld 1949).

Die Tatsache, daß das Gmelin-Institut für anorganische Chemie eine Tagung veranstaltet, an welcher nicht allein über Naturwissenschaft, sondern auch über Religion und Weltanschauung gesprochen wird, ist ein Zeichen der Zeit. Nicht nur in Deutschland, wo nach dem allgemeinen Zusammenbruch ein derartiger Versuch zur Bestimmung des menschlichen Standorts am ehesten erwartet werden muß, wird die Notwendigkeit dieses Unternehmens eingesehen, sondern beispielsweise auch in den USA. (Siehe Northrops Sammlung über «Ideological differences and world order: studies in the philosophy and science of the world culture». Yale Univ. Press. New Haven, Conn.)

Der Umfang des im Clausthaler Gespräch behandelten Stoffes verunmöglicht eine eingehende Besprechung. Allein die Titel der Vorträge zeigen aber deutlich genug die Weitschichtigkeit und den Ernst der Problemstellung:

1. Vernunft und Glaube. Einführung von E. PIETSCH, Clausthal. 2. Kosmogonische Anschauungen der modernen Physik, P. JORDAN, Hamburg. 3. Erkenntnisgrenzen in der Physik des Weltalls, H. SIEDENTOFF, jetzt T. H. Stuttgart. 4. Dialektischer Materialismus und theoretische Physik, K. ZWEILING, Berlin. 5. Biologie und Physik, R. KAPLAN, Voldagsen. 6. Quantenphysik des Lebendigen, P. JORDAN, Hamburg. 7. Die Bedeutung der mechanistischen und der teleologischen Denkweise für die Problemfindung und die Problemlösung in der Biologie, dargestellt am Problem der Krebsentstehung, L. WENDT, Frankfurt a.M. 8. Der Normbegriff als Bindeglied zwischen Natur- und Geisteswissenschaften. Ein Beitrag zum Mythos der gefallenen Schöpfung, A. MÜLLER, Weimar. 9. Zur Frage der Kausalität in den Naturwissenschaften, R. LAUN, Hamburg. 10. Zur Frage nach der Gültigkeit des Kausalprinzips, R. GLAUNER, Clausthal. 11. Bewußtsein und Wirklichkeit, P. JORDAN, Hamburg. 12. Die Geburt der Philosophie in Heraklit und ihre Funktion in der geistigen Lage der Gegenwart, F. J. BRECHT, Heidelberg. 13. Naturwissenschaft und Philosophie, H. REMY, Hamburg. 14. Das Geltungsproblem als Fundament aller strengen Naturwissenschaften und das Irrationale, H.

DINGLER, München. 15. Philosophie der Gegenwart und ihr Verhältnis zur Naturwissenschaft, A. WENZL, München. 16. Voraussetzungslose Wissenschaft und christlicher Glaube, J. HESSEN, Köln. 17. Verträglichkeit bzw. Harmonie zwischen christlichem Dogma und Naturwissenschaft, J. TERNUS S. J., Büren, Westfalen. 18. Das gegenwärtige Gespräch zwischen Theologie und Physik, G. HOWE, Christophorus-Stift, Hemer. 19. Die Stellung der exakten Wissenschaften im Rahmen der christlichen Kultur, H. LANGE, Köln. 20. Die Bewältigung der Wirklichkeit, A. KOROWSKI, Clausthal.

Die Lektüre der Sammlung, welche verschiedene Standpunkte in sich vereint und von ernstlichem Streben zeugt, ist angelegentlich zu empfehlen.

H. BIRKHÄUSER

### Atomenergie und ihre Verwertung im Kriege

*Offizieller Bericht über die Entwicklung der Atombombe*

Von HENRY DE WOLF SMYTH. Übersetzt und erläutert von Prof. Dr. FRIEDRICH DESSAUER. 352 Seiten mit 19 Abbildungen

(Ernst-Reinhardt-Verlag, AG., Basel 1947) (sFr. 16.–)

Es ist klar, daß ein offizieller Bericht über die Arbeiten, die zu dem heutigen Stand der Ausnutzung der Atomenergie geführt haben, keine detaillierten Angaben über wesentliche Verfahren enthalten kann und sich auf eine Schilderung der Organisation und des zeitlichen Fortschreitens der wissenschaftlichen und technischen Entwicklung auf den wichtigsten Arbeitsgebieten beschränken muß. Trotzdem bleibt der Bericht gleichermaßen für den Fachmann und den Laien interessant und wertvoll. Die übersichtliche klare Art der Berichterstattung gibt trotz ihrer trockenen Sachlichkeit ein eindrucksvolleres Bild von der verwirrenden Fülle und dem Ausmaß der zu lösenden Probleme und von der Größe der schließlich von Erfolg gekrönten wissenschaftlichen und technischen Leistungen, als es ein phantasiebegabter Sensationsschriftsteller hätte entwerfen können. Es ist sicher, wie der Übersetzer sagt, ein historisches Dokument hohen Ranges, und die ausgezeichnete Art der Darstellung und der Übersetzung macht die Lehre, die es enthält, auch für Laien und Kultusministerien verständlich, die ja im Hinblick auf die Naturwissenschaft in der Regel ebenfalls Laien sind. Die außerordentliche Höhe der Summen, die in vielen Ländern bereits heute für Grundlagenforschung trotz größter wirtschaftlicher Schwierigkeiten bewilligt werden, zeigen deutlich, daß man dort gewillt ist, die Konsequenzen aus diesen Lehren zu ziehen, ein Erfolg, wie ihn sich ein Buch nicht besser wünschen kann.

F. STRASSMANN

### Fifty Years of Plant Physiology

By TH. WEEVERS

308 pp., and 35 figures

(Scheltema & Holkema's Boekhandel en Uitgeversmaatschappij N. V., Amsterdam 1949)

Dieses Buch schildert die Entwicklung der Pflanzenphysiologie in den Jahren von 1895 bis 1945. Es geht aus vom Abschnitt «Physiologie» in der letzten Auflage des Lehrbuches der Botanik von DE VRIES im Jahre 1895. Die dort gewählte Einteilung der Pflanzenphysiologie in 12 Kapitel, von denen die ersten 7 den Stoffwechsel und weitere 5 den Formwechsel (Wachstum und

Bewegung) behandeln, ist beibehalten. Einleitend wird bei jedem Kapitel der damalige Stand der verschiedenen Stoffgebiete dargestellt (Atmung, Wasserbewegung, anorganische Ernährung, Stoffbewegung, Wachstum, Tropismen und Nastien), worauf die Wege und Ergebnisse der Forschung bis in die neueste Zeit in anschaulicher und miterlebter Weise beschrieben werden. Da sich die verschiedenen Gebiete ungleich entwickelt haben, ist die ursprüngliche Gleichwertigkeit der Kapitel verlorengegangen. Dies gilt namentlich für den Abschnitt «Mineral Nutrition», in dem DE VRIES nicht nur die Stoffaufnahme, sondern auch die Photosynthese und die Assimilation des Stickstoffs untergebracht hatte, so daß in diesem Kapitel ein gewaltiges Ausmaß an neuen Erkenntnissen resümiert werden muß. Abgesehen von dieser zeitlich bedingten Gewichtsverschiebung der einzelnen Disziplinen, muß man staunen, wie die vor über 50 Jahren gegebene Darstellung der Pflanzenphysiologie von DE VRIES – der ja in einseitiger Weise vor allem als Genetiker in die Geschichte der Wissenschaften eingegangen ist – noch heute als Grundlage für das vorliegende Werk dienen kann. Sehr originell war seine Lehrmethode, die Pflanzenphysiologie mit dem Kapitel «Respiration» zu beginnen, da ja bei diesem Vorgange die notwendige Lebensenergie gewonnen wird. Die Darstellung der Entwicklung und Wandlung der Anschauungen über Atmung und Gärung (NEUBERG, WARBURG, WIELAND, KEILIN, MEYERHOF) zeigt besonders schön, wie der Verfasser die Pflanzenphysiologie beherrscht und das Wesentliche vom Unwesentlichen zu scheiden weiß. Für alle, die sich dafür interessieren, wie die biochemischen Entdeckungen der Enzyme, Vitamine, Wuchsstoffe und Spurenelemente gemacht und ausgewertet worden sind, bildet das vorliegende Buch eine Fundgrube und genußreiche Lektüre.

A. FREY-WYSSLING

### Schöner Wald in treuer Hand

Von J. B. BAVIER

360 Seiten, 3 Karten, 25 Kunstdrucktafeln und 20 Abbildungen im Text

(Verlag Sauerländer & Co., Aarau 1949)

(Leinen sFr. 14.–)

Der Schweizerische Forstverein hat 1914 anlässlich der Landesausstellung eine von PHILIPP FLURY bearbeitete, allgemeinverständliche Monographie über die forstlichen Verhältnisse der Schweiz herausgegeben, welche 1925 in zweiter, seither längst vergriffener Auflage erschien. Die Forstwissenschaft und die praktische Waldwirtschaft haben sich seither derart entwickelt und gewandelt, daß an eine Neuauflage nicht mehr zu denken war. Der frühere Kantonsforstinspektor Graubündens, J. B. BAVIER, hat daher vom Schweiz. Forstverein den Auftrag übernommen, ein neues, gemeinverständliches Buch über die schweizerische Waldwirtschaft zu schreiben. Das Buch vermittelt einen ausgezeichneten Einblick in die Waldgeschichte, die natürlichen Grundlagen, das Wesen und die volkswirtschaftliche Bedeutung unserer Waldwirtschaft und ist als leicht lesbares Volksbuch gedacht; wohl deshalb wird leider in der Regel auf Literaturangaben verzichtet. Der Text beweist jedoch, daß die neueste Literatur weitgehend verarbeitet wurde. Besonders deutlich tritt die starke Betonung der naturwissenschaftlichen Grundlagen im schweizerischen Waldbau hervor. Statistische Tabellen im Anhang über Waldflächen, Holznutzungen und Gelderträge der schweizerischen Waldungen erhöhen den Wert des Buches als Nachschlagewerk. Es

dient daher nicht allein der allgemeinen forstlichen Aufklärung, sondern entspricht auch einem Bedürfnis all jener, welche sich über waldwirtschaftliche Fragen zu orientieren suchen, ohne die zum Teil nicht leicht zugängliche Fachliteratur studieren zu müssen.

H. LEIBUNDGUT

### Sensory Mechanisms of the Retina

*With an Appendix on Electrovretinography*

By RAGNAR GRANIT

(Oxford University Press, London, New York, and Toronto, 1947)

Das vorliegende kleine Werk, das auf 356 Seiten Text die wichtigsten Probleme des Sehvorganges behandelt, erhält dadurch einen besonderen Reiz, daß der Verfasser Gelegenheit nimmt, das Resultat seiner eigenen sehr umfangreichen Forschungen im Zusammenhang darzustellen. Der Stoff wird in vier Sektionen gegliedert. I. The electrical signs of excitation. II. The properties of rods and cones. III. The properties of the photosensitive substances. IV. Colour reception. Das Büchlein ist ein unentbehrlicher Ratgeber für jeden, der sich in die moderne Problematik des Sehens einarbeiten will.

W. V. BUDDENBROCK

### Die Wiederherstellungschirurgie, insbesondere die Verwendung der Rollappenplastik

VON KARL-EWALD HERLIN

200 Seiten, 357 Abbildungen und 1 mehrfarbige Tafel  
(Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1949)  
(Ganzleinen sFr. 35.20)

Das Ziel des Buches ergibt sich aus folgenden Sätzen des Vorworts: «Die Wiederherstellungschirurgie ist unabhängig von den Zeitereignissen ein besonderes Aufgabengebiet unseres Faches. Kriege mit ihren tausendfachen Verstümmelungen haben ihr immer neuen Antrieb gegeben. So ist auch aus Wunden des letzten Krieges im wesentlichen das Operationsgut entstanden, das dieser Zusammenstellung zugrunde liegt. Die hier

niedergelegte Darstellung ist ein Bekenntnis zur Rollappenplastik. Das Schwergewicht der in 20 Jahren gesammelten Erfahrungen liegt in der Arbeit am Operationstisch... Man könnte sich bei der Darstellung gerade der plastischen Technik ins Uferlose verlieren. Ich habe mich bemüht, das Grundsätzliche zum plastischen Vorgehen hervorzuheben und bewußt auf mancherlei Beziehungen zum Schrifttum verzichtet.»

Die Wiederherstellungschirurgie ist eine Aufgabe der Allgemeinen Chirurgie und muß auf alle ihre Regeln Rücksicht nehmen. Sie wird wohl immer in den Händen der dazu geeigneten und berufenen Operateure liegen, aber auch die «Nichtberufenen» haben die Pflicht, sich mit diesem Aufgabengebiet zu befassen. Die Aufgabe der Wiederherstellungschirurgie ist die Beseitigung angeborener oder erworbener körperlicher Fehler, die Besserung der krankhaften Funktion der Gliedmaßen und die Schaffung neuer Formen. Die Mittel zum Erreichen dieser Ziele und ihre sachgemäße Anwendung werden im vorliegenden Werke geschildert. Kurz und gut ist der Abschnitt über die Hautübertragung, Ausführlich, anschaulich, durch Wort und Bild erklärt, wird das Wesen und die Technik der Rollappenplastik dargestellt. Es ist durchaus verständlich, daß gerade diese Methode in Form der eigentlichen Rollappenplastik oder der Rundstielplastik so bevorzugt wird, führt sie doch zu außerordentlich guten Resultaten, wie dies aus den zahlreichen Beispielen des Verfassers hervorgeht. Die weiteren Kapitel des Buches betreffen die Wiederherstellung der Nase, den Ersatz der Stirn- und Schläfenhaut, die Beseitigung von Narben und Narbengeschwüren, die Wiederherstellung an den Extremitäten, am Penis, die Verkleinerung vergrößerter Körperteile, die Verbesserung des Anus praeternaturalis und die Bildung eines Schlauchanus.

Das Buch ist gut geschrieben, ausgezeichnet mit Abbildungen ausgestattet und wird allen, die sich mit diesem Fach der Chirurgie abgeben wollen, ein wertvoller Helfer sein. Und wer sich nur gelegentlich mit plastischen Eingriffen abzugeben hat, z. B. zur Deckung traumatischer Defekte, wird erst recht einen willkommenen Nutzen aus der klaren Darstellung des Verfassers gewinnen.

H. HEUSSER

## Informations – Informationen – Informazioni – Notes

### EXPERIENTIA MAIORUM

#### La perspective normale, sa découverte au XV<sup>e</sup> siècle

Par PAUL AD. MERCIER<sup>1</sup>

L'art italien au « Quattrocento », de MASACCIO (1401–1428) à LÉONARD DE VINCI (1452–1519), est dominé par ce fait que les peintres ont découvert la perspective.

<sup>1</sup> Genève, Montbrillant.

Cette génération d'artistes se donna la tâche d'introduire dans la peinture les progrès suscités par l'architecture et la sculpture, spécialement celle des bas-reliefs, et c'est vraisemblablement le célèbre architecte BRUNELLESCHI (1377–1446), le constructeur de la coupole du Dôme de Florence, qui leur enseigna le moyen de représenter les édifices, les colonnades, les intérieurs suivant les lois de la perspective linéaire.

Un renseignement fréquemment donné dans les traités modernes sur la perspective, fait remonter au peintre toscan PIERO DELLA FRANCESCA et à la date de 1450, la découverte de cette discipline; c'est une erreur. PIERO DELLA FRANCESCA a bien écrit à la fin de sa vie,

probablement en 1482, le «*De prospectiva pingendi*», et ses œuvres montrent qu'il connaissait bien les règles de la perspective utilisées à son époque. Mais c'est dans



l'ouvrage de LEON BATTISTA ALBERTI (1404–1472) intitulé «*De pictura, libri tres*», que l'on trouve les premières règles sur la mise en perspective de carrelages réguliers (pavimenti) avec emploi d'un point principal de fuite et d'un point principal de distance. Ce traité écrit vers 1444, avant l'invention de l'imprimerie, a été traduit en italien et publié en 1651 par RAPHAËL DU FRESNE, dans une magnifique édition in-folio, contenant le «*Trattato della pittura*» de LÉONARD DE VINCI et «*Della pittura e della statua*» de LEON BATTISTA ALBERTI. L'ouvrage imprimé est dédié à la reine CHRISTINE de Suède.

Une figure de ce livre, reproduite ci-contre, montre bien plus clairement que le texte, la mise en profondeur d'une série de droites parallèles à la base du tableau. Le point *A*, appelé «*punto della veduta*», est ce que nous appelons aujourd'hui le point principal de distance, il est placé à gauche du point principal de fuite (*punto del centro*), à une distance égale à la demi-base; cela revient à dire que le spectateur est supposé placé en avant du tableau à cette même distance; il embrasse donc la perspective sous un angle de  $90^\circ$ . C'est exagéré, car l'angle de vision de l'oeil reste inférieur à  $50^\circ$ . C'est probablement pour laisser ce point *A* dans les limites du dessin que cette distance trop faible (donc cet angle de vision trop fort), est adoptée.

Il est très intéressant de constater que les peintres contemporains d'ALBERTI, emploient cette construction dans leurs œuvres d'art. On la trouve déjà sur un des bas-reliefs de la porte Est (porte dite du Paradis), du Baptistère de Florence, chef d'œuvre de Ghiberti. L'un des compartiments représente l'histoire de Joseph; on y voit un édifice circulaire à colonnes, et il est très facile d'en tirer les éléments perspectifs fondamentaux, points

principaux de fuite et de distance; ce dernier tombe sur le bord du cadre de ce panneau; l'angle sous-tendu est donc de  $90^\circ$ .

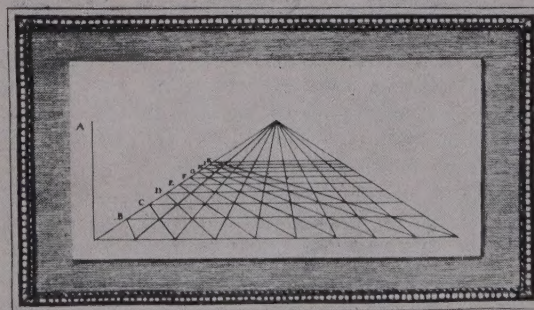
La même restitution peut se faire avec précision pour trois œuvres de PIERO DELLA FRANCESCA, cité plus haut. Tout d'abord la fresque de la chapelle de Saint-François, à Assise, représentant Salomon et la Reine de Saba, peinte vers 1465. La moitié droite de cette œuvre comporte une construction architecturale très régulière qui conduit à trouver le point principal de distance un peu en dehors du bord du tableau, alors que le point de fuite principal est au centre, l'angle de visée reste donc un peu inférieur à  $90^\circ$ . Puis, dans la «*Flagellation du Christ*», du Dôme d'Urbin, datant de 1469, on voit à gauche des motifs architecturaux très précis qui amènent au même résultat, point principal de distance sur le bord, point principal de fuite au centre, l'horizon étant placé très bas, au quart inférieur du tableau. Enfin, dans le retable du cloître de San Bernardino d'Urbin, aujourd'hui au Musée Brera de Milan, la Vierge, les anges et les saints sont adossés à une grande niche dont les éléments d'une parfaite symétrie conduisent à trouver le point de distance, cette fois en dehors du cadre, ce qui donne un angle de visée de  $65^\circ$  beaucoup plus satisfaisant, mais encore trop grand, pour les possibilités physiologiques de l'œil.

LÉONARD DE VINCI (1452–1519) a écrit sur la perspective, un traité malheureusement perdu et les allusions qu'il y fait dans son «*Trattato della pittura*» sont trop rares pour en retrouver la teneur; mais on peut appliquer la même méthode de restitution que précédemment pour juger de ses procédés.

Dans la célèbre fresque de la Sainte Cène du couvent des Dominicains à Santa Maria delle Grazie de Milan (1495–1497), la largeur est double de la hauteur et l'on n'embrasse pas d'un seul coup d'œil l'ensemble de l'œuvre qui comporte cinq éléments: le Christ au centre, saint Jean, saint Pierre et Judas à sa droite, saint Thomas, saint Jacques le Majeur et saint Philippe à sa gauche; enfin les autres apôtres forment deux groupes de trois à chaque extrémité de la longue table.

Si l'on borne son regard aux trois premiers éléments et qu'on fait la restitution géométrale, on trouve un angle de visée de  $28^\circ$ , tout à fait agréable; involontairement, on déplace la tête pour voir les personnages latéraux plus épisodiques, sans se douter qu'on change la direction de son regard. Il y a là un procédé fort habile du grand LÉONARD.

*Punto del centro alle tre braccia.*



*Linea giacente di nove braccia.*

*A. punto della veduta alto tre braccia B. C. D. E. F. G. H. I. K. linee parallele.*

Mais les plus belles et les plus heureuses perspectives faites à cette époque sont celles de RAPHAËL (1483–1520). Chacun connaît les Chambres du Vatican, décorées de

1508 à 1511. Dans celle dite de la Signature, on voit sur la paroi de droite la «Dispute du Saint-Sacrement», sur la paroi de gauche d'Ecole d'Athènes. Inutile de faire aucune suppression fictive à ces célèbres peintures: d'un seul coup d'œil, sous un angle de visée de 50°, on en voit tout l'ensemble. Les lignes fuyantes de la perspective dirigent le regard sur l'ostensoir, dans la «Dispute», ou sur les têtes du groupe Platon et Aristote, dans «l'Ecole d'Athènes».

Un exemple encore plus typique, dû à RAPHAËL, est fourni par le tableau du Musée Brera, à Milan: «Les Noces de la Vierge» (Sposalizio); les personnages en occupent la moitié inférieure; si on les supprime, il reste un extraordinaire exemple de perspective architecturale d'une exactitude parfaite, vue sous un angle de 52°, tout à fait conforme à la vision monoculaire.

Nous arrivons ainsi au XVI<sup>e</sup> siècle et dès lors, les traités sur la perspective deviennent nombreux; on connaît ceux de Viator, (J. PÉLERIN), *De artificiali perspectiva* (1505), de BALTASSARE PERUZZI, l'architecte du Palais de la Farnesine à Rome (1488–1536) qui s'occupait de perspective théâtrale, de D. BARBARO, *La pratica della prospettiva*, Venise 1569, de M. J. BAROZZI DA VIGNOLA, *Le due regole della prospettiva pratica* (1550), de GUIDOBALDO DEL MONTE, *Perspectivae*, libri sex, Pesaro 1600. On étudie la perspective plafonnante, dont l'œuvre de A. Pozzo montre des exemples typiques et qui est restée en honneur jusqu'à nos jours pour la décoration des plafonds des édifices publics.

A partir du XVII<sup>e</sup> siècle, l'étude de la perspective devient peu à peu l'affaire des mathématiciens qui finissent par en faire un chapitre de la géométrie descriptive, sous le nom de projection centrale. A titre de curiosité, on peut citer un ouvrage de J. H. LAMBERT, de Mulhouse (1728–1777): «*Die freie Perspektive, oder Anweisung jeden perspektivischen Aufriss von freien Stücken und ohne Grundriss zu verfertigen*», paru à Zurich en 1759 (bey Heidegger und Cie.). LAMBERT veut libérer le dessinateur de l'ennui d'avoir à mettre en perspective le tracé géométral. Il invente pour cela un instrument ingénieux qu'il appelle «Proportional-Zirkel».

Ce compas de proportion n'a rien à voir avec le compas actuel pour le tracé des cercles, mais bien avec celui inventé par GUIDOBALDO DEL MONTE et perfectionné par GALILÉE, lequel publia en 1606 sur ce sujet le traité intitulé «*Le Operazioni del compasso geometrico e militare*». LAMBERT rajoute aux lignes gravées sur l'instrument (lignes des parties égales, lignes des plans, lignes des solides, lignes des cordes, lignes des polygones) de nouvelles échelles permettant la mise en profondeur et en hauteur de tout point d'une perspective.

Les lecteurs suisses seront peut-être intéressés de savoir que le général G. H. DUFOUR a publié en 1827, alors qu'il était encore lieutenant-colonel du génie, une «*Géométrie perspective avec ses applications à la recherche des ombres*», dans laquelle se trouvent résolus, directement en perspective normale, les problèmes fondamentaux de la géométrie descriptive.

Au XIX<sup>e</sup> siècle, l'invention de la photographie vient rendre automatique la production des images perspectives, de sorte que l'illustration de toutes les œuvres contemporaines (livres, périodiques, journaux quotidiens,

etc.) est devenue le moyen le plus efficace pour imprimer dans la vision de chacun les lois et les effets d'une science géométrique ignorée ou très mal interprétée il y a cinq siècles.

## EXPLICATIONES

### Das Aroma des gerösteten Kaffees

Unter der Bezeichnung «Coffee-Captan» wird von der Firma Cargille Scientific Inc., New York, Furfuryl-mercaptan in den Handel gebracht und es erscheinen darüber in verschiedenen Zeitschriften Notizen, die den Anschein erwecken, als ob es sich hier um eine neue Entdeckung handelt.

Wir haben uns in den Jahren 1920–1930 eingehend mit der chemischen Analyse der Riechstoffe des gerösteten Kaffees beschäftigt. Es ergab sich, daß dieses Material sein angenehmes Aroma nicht einer einzigen wohldefinierten Verbindung verdankt, sondern einer Kombination sehr zahlreicher, teilweise recht empfindlicher Stoffe. Als einer der für den Geruch wesentlichsten Bestandteile wurde das Furfurylmercaptan erkannt, das im Aroma an Aldehyde und Diketone locker gebunden ist. Reines Furfurylmercaptan riecht sehr widerlich und zeigt höchstens in größter Verdünnung einen entfernt an Kaffee erinnernden, aber unangenehmen Geruch. Das wahre Kaffeearoma zeigt nur die Kombination mit den sehr zahlreichen andern Komponenten. Im Anschluß an diese Untersuchungen konnten Kombinationen von etwa 50 Stoffen bereitet werden, die man mit einigem Recht als künstliches Kaffeearoma bezeichnen kann<sup>1</sup>. Dies ist in demselben Sinn zu verstehen wie bei künstlichen Nachahmungen der bekannten Blütenöle und anderer zusammengesetzter Riechstoffe. In allen diesen Fällen ist es grundsätzlich unmöglich, eine künstliche Komposition zu bereiten, die mit dem Naturprodukt völlig identisch ist. Der Geruch des Naturproduktes wird nicht nur durch die Hauptgeruchsträger bewirkt, sondern noch durch eine Unzahl von Spurenbestandteilen maßgebend beeinflusst, deren restlose analytische Erfassung praktisch unmöglich ist.

Diese Arbeiten wurden durch ein Stipendium der Schweizerischen Volkswirtschafts-Stiftung unterstützt und später von der «Inga», Internationale Nahrungs- und Genußmittel-AG., Schaffhausen, finanziert. Sie wurden in einer großen Zahl von schweizerischen und ausländischen Patenten veröffentlicht, von denen hier folgende genannt seien:

Schweiz. Patent Nr. 128720 vom 16. 9. 1926 ausg. 16. 11. 1928

Schweiz. Patent Nr. 130605 vom 16. 9. 1926 ausg. 16. 2. 1929

Schweiz. Patent Nr. 130606 vom 16. 9. 1926 ausg. 17. 2. 1929

Schweiz. Patent Nr. 130607 vom 16. 9. 1926 ausg. 16. 2. 1929

T. REICHSTEIN und H. STAUDINGER

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel und Chemisches Institut der Universität Freiburg i. Br., den 4. April 1950.

<sup>1</sup> Auf Grund dieser Befunde wurde von der Firma Haarmann & Reimer, Holzminden a. W., ein Kaffeearoma ausgearbeitet, das seit 1928 hergestellt und vertrieben wird.

# Zeitschrift für angewandte Mathematik und Physik

**ZAMP**

Journal of Applied Mathematics and Physics – Journal de Mathématiques et de Physique appliquées

Editores: J. Ackeret E. Baumann P. Niggli P. Scherrer E. Stiefel  
F. Stüssi H. Ziegler Redactor: R. Sängler

## INHALT – CONTENTS – SOMMAIRE Vol. I – Fasc. 4 – 15: VII. 1950

SCHAEFER, V. J.: Experimental Meteorology (Fortsetzung und Schluß) – STRÜSSI, F.: Die Grundlagen der mathematischen Plastizitätstheorie und der Versuch – SAUER, R.: Elementare Theorie des langsam-schwingenden Überschallflügels – FREY, W. und LÜDI, F.: Zur Theorie der Travelling-Wave Tube.

## Kurze Mitteilungen – Brief Reports Communications brèves

SCHAETTI, N. und BAUMGARTNER, W.: Antimon-Lithium Photokathode.

## Varia – Miscellaneous – Divers

KREYSSIG, E.: Tagung der Gesellschaft für angewandte Mathematik und Mechanik – KÖNIG: Commission internationale d'Optique – Buchbesprechungen – Book Reviews – Notices bibliographiques.

Jahresabonnement (6 Nummern):  
Inland 28.—, Ausland 34.—, Einzelnummer Fr. 6.—  
Annual subscription (6 issues):  
Switzerland 28.—, foreign 34.—, single copy Fr. 6.—  
Abonnement annuel (6 numéros):  
Suisse 28.—, étranger 34.—, le numéro Fr. 6.—  
Verlangen Sie bitte unter Hinweisung auf dieses  
Inserat die Zustellung eines Probeheftes.

*Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung*

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL (Schweiz)

# Bücher aus dem Verlag Birkhäuser Basel

## GRUNDLEGENDE DER EXAKTEN WISSENSCHAFTEN

REICHENBACH, H.: Philosoph. Grundlagen der Quantenmechanik 23.—

## MATHEMATIK

ZWINGGI, E.: Versicherungsmathematik . . . . . 27.—  
FUETER, R.: Analytische Geometrie der Ebene und des Raumes . . . . . 22.50  
LINDER, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure . . . . . 18.50  
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 1, Funktionen einer Variablen . . . . . 47.50  
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 2 und 3, Funktionen mehrerer Variablen . . . . . \*  
STIEFEL, A.: Lehrbuch der darstellenden Geometrie . . . . . 28.50  
DOETSCH, G.: Handbuch der Laplace-Transformation, Band 1 . . . . . \*  
CARATHÉODORY, C.: Funktionentheorie, Band I 36.—, Band II . . . . . 24.50  
CARATHÉODORY, C.: Maß und Integral und ihre Algebraisierung . . . . . \*  
VOELKER, D. und DOETSCH, G.: Die zweidimensionale Laplace-Transformation . . . . . \*

## PHYSIK

GOMBAS, P.: Theorie- und Lösungsmethoden des Mehrteilchenproblems der Wellenmechanik . . . . . 29.50

## CHEMIE

NIGGLI, P.: Grundlagen der Stereochemie . . . . . 32.50  
BRANDENBERGER, E.: Röntgenographisch-analytische Chemie . . . . . 28.50  
KARRER, P. und JUCKER, E.: Carotinoide . . . . . 43.—  
HÄGG, G.: Die theoretischen Grundlagen der analytischen Chemie . . . . . 22.—  
BURRI, C.: Das Polarisationsmikroskop . . . . . 32.80

## EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

VOUG, V.: Grundriß zu einer Balneobiologie der Thermen . . . . . 11.50  
GAUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre . . . . . 48.50  
LEHMANN, F. E.: Einführung in die physiologische Embryologie . . . . . 38.—  
MURALT, A. VON: Die Signalübermittlung im Nerven . . . . . 38.50  
GAUMANN, E.: Die Pilze, ihre Entwicklungsgesch. und Morphologie . . . . . 38.—  
BUDDENBROCK, W. VON: Vergleichende Physiologie, Bd. IV: Hormone . . . . . 47.50

## MINERALOGIE

MOOS, A. VON, und QUERVAIN, F. DE: Technische Gesteinskunde . . . . . 33.—  
BÜROKHARDT, J. J.: Die Bewegungsgruppen der Kristallographie . . . . . 29.—  
NIGGLI, P., und NIGGLI, E.: Gesteine und Mineralagerstätten. Band I . . . . . 46.—

## ASTRONOMIE

PAHLEN, E. VON DER: Einführung in die Dynamik v. Sternsystemen . . . . . 36.—  
NIETHAMMER, TH.: Die genauen Methoden der astronomisch-geographischen Ortsbestimmung . . . . . 32.—  
WALDMAYER, M.: Einführung in die Astrophysik . . . . . 47.50

## Lehr- und Handbücher der Ingenieurwissenschaften

STRÜSSI, F.: Vorlesungen über Baustatik . . . . . 38.50  
MEISSNER, E., und ZIEGLER, H.: Mechanik, Band 1, Statik . . . . . 36.—  
MEISSNER, E., und ZIEGLER, H.: Mechanik, Band 2, Dynamik . . . . . 32.50  
JAEGER, CH.: Technische Hydraulik . . . . . 48.50  
RUSTERHOLZ, A.: Elektronenoptik . . . . . 29.—  
KUHLMANN, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 1 . . . . . \*  
KUHLMANN, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 2 . . . . . 26.50

## Wissenschaft und Kultur

SPEISER, A.: Die mathematische Denkweise . . . . . 14.50  
FIERZ-DAVID, H. E.: Die Entwicklungsgeschichte der Chemie . . . . . 21.50  
GAMOW, G.: Geburt und Tod der Sonne . . . . . 24.50  
STRAUB, H.: Die Geschichte der Bauingenieurkunst . . . . . 22.50  
NIGGLI, P.: Probleme der Naturwissenschaften . . . . . 18.50

## Industrie und Technik

FIERZ-DAVID, H. E., und MERIAN, E.: Abriß der chemischen Technologie der Textilfasern . . . . . 36.50  
COHEN, A.: Rationelle Metallanalyse . . . . . 46.—  
STÄGER, H.: Allgemeine Werkstoffkunde . . . . . 46.50  
SCHMID, E. V.: Ins Innere von Kunststoffen, Kunstharzen und Kautschuken . . . . . 18.50  
MOSER, A.: Der Dampfbetrieb der schweiz. Eisenbahnen 1847—1947 . . . . . 30.—  
BODEA, E.: Giorgis rationales MKS-Maßsystem mit Dimensionshärenz . . . . . 24.50

## Neueste Fortschritte und Verfahren in der chemischen Technologie der Textilfasern

DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 1 . . . . . 68.—  
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 2 . . . . . 78.—  
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 3 . . . . . 72.—  
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 1 . . . . . 87.50  
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 2 . . . . . \*

## Einzelwerke

SÄNGER, R.: Ballistische Störungstheorie . . . . . 14.50  
LOCHER-ERNST, L.: Differential- und Integralrechnung im Hinblick auf ihre Anwendung . . . . . 48.—  
HURWITZ, A.: Mathematische Werke  
Band 1: Funktionentheorie . . . . . 44.—  
Band 2: Zahlentheorie, Algebra, Geometrie . . . . . 44.—  
SCHLÄFLI, L.: Gesammelte mathematische Abhandlungen, Band 1 . . . . . 54.—  
THOMMEN, E.: Taschenatlas der Schweizer Flora . . . . . 12.50  
KALMUS, H.: Einfache Experimente an Insekten . . . . . 9.75  
BRÄNDLI, H.: Theorie des Mehrfach-Schusses . . . . . 28.50

## Odonto-Stomatologie

SPRENG M./GASSER F./OPPIKOEFER E.: Zahnärztliche Prothese und Mundhöhlen-Carcinom . . . . . 23.50  
Beiträge zur Zahnmedizin, herausgegeben vom Dozenten-Kollegium des Zahnärztlichen Instituts der Universität Basel . . . . . 20.—

\* In Vorbereitung — \* en préparation

*Alle Bücher können durch die Buchhandlungen bezogen werden*

# Richard Willstätter

## *Aus meinem Leben*

Von Arbeit, Muße und Freunden

Herausgegeben und mit einem Nachwort versehen von ARTHUR STOLL, Basel

1949. Gr. 8°, 462 Seiten, mit einem farbigen Porträt und 49 Bildern. Ganzleinenband mit Schutzumschlag DM. 28.—

### *So urteilt die Fachpresse:*

«Die Lektüre dieses Buches wirkt beglückend. Man spürt, daß nicht nur ein großer Forscher, sondern auch ein Mensch edelster Gesinnung zu uns spricht...»

(Chemische Rundschau Solothurn, 2. Jg., Nr. 22)

«Nächst den 'Lebenslinien' Wilhelm Ostwalds ist das vorstehende Buch von Richard Willstätter die nach Inhalt und Umfang hervorragendste Autobiographie eines führenden wissenschaftlichen Chemikers des 20. Jahrhunderts...»

(Zeitschrift für Naturforschung, Band 56, Heft 2)

«... Es ist sehr wertvoll, durch einen Mann wie Richard Willstätter als einen der letzten Zeugen der Entwicklung der klassischen organischen Chemie einen zusammenfassenden Bericht zu erhalten... Das Buch ist nicht nur ein Beitrag zur Geschichte der chemischen Wissenschaften, sondern auch ein Glaubensbekenntnis...»

(Schweizer Archiv f. ang. Wiss. u. Techn., 1950, Heft 1)

«... Die dem Werk vom Verlag gegebene vorzügliche Ausstattung ist dem Inhalt durchaus angemessen.»

(Die Pharmazeutische Industrie, Jg. 12, Heft 3)

*Das Buch kann durch den Schweizer Buchhandel oder direkt vom Verlag bezogen werden*

VERLAG CHEMIE, GmbH, WEINHEIM / BERGSTRASSE

## Medizinische Publikationen

aus dem

Verlag Ars Medici Lüdin AG. Liestal (Schweiz)

**Diagnostisch-therapeutisches Handbuch** der *Ars Medici*, 8. Auflage 1948, und **Ergänzungsband** 1944-1947. 1446 Seiten Inhalt mit 147 Abbildungen im Textteil. Großoktav. Ganzleinenband Preis sFr. 82.—

**Ergänzungsband** 1944-1947 zum Diagnostisch-therapeutischen Handbuch. 302 Seiten Inhalt mit 61 Abbildungen im Text. Großoktav, Ganzleinenband. Preis sFr. 24.—

**Lehrbuch der inneren Sekretion**, von Dr. F. Verzar, Professor der Physiologie an der Universität Basel, 610 Seiten Inhalt mit 80 Abbildungen im Text. Großoktav, Ganzleinenband. 1948. Preis sFr. 52.—

**Geburtshilfe des praktischen Arztes**, von Prof. Dr. E. von Graff, 3. Auflage. 1947. 256 Seiten Inhalt mit 82 Abbildungen im Text, broschiert Preis sFr. 18.— Ganzleinenband Preis sFr. 21.—

**Ischias, Kritische Sichtung von Diagnostik und Therapie**, von Prof. Dr. Alois Strasser. 150 Seiten Inhalt mit 21 Abbildungen, broschiert Preis sFr. 8.50

## ARS MEDICI

Das Organ des praktischen Arztes

Herausgegeben von Dr. Max Ostermann. Erscheint monatlich. 40. Jahrgang. 1950.

Franko Schweiz sFr. 17.—, franko Ausland sFr. 20.—.

Die «Ars Medici» bringt in prägnanter und doch erschöpfender Form alles praktisch Wichtige aus der laufenden medizinischen Weltliteratur in kritischer Auswahl und Gestaltung. Wir referieren regelmäßig etwa 70 medizinische Zeitschriften. Die Referate sind so gehalten, daß man aus ihnen selbst klug werden kann; sie enthalten alle für die Praxis wichtigen Punkte der Originalarbeit in möglichster Kürze, jedoch voller Klarheit und noch manches darüber hinaus (Aufklärung, Kritik, technische Winke usw.).

Probehefte, Prospekte sowie Auskunft über die Bezugsmöglichkeiten im Ausland bereitwilligst durch den Verlag.